

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie

Oddělení ekologie a etologie

Magisterská diplomová práce

**Hybridizace a její vliv na fitness hybridů u gekončků
rodu *Eublepharis***

Jitka Lásková

Hybridisation among species of the genus *Eublepharis* and its influence on
fitness of hybrids

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Eva Landová, PhD.

Konzultant: Doc. RNDr. Daniel Frynta, PhD.

Praha, září 2008

Prohlašuji, že diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím citované literatury.

Jitka Lásková

Poděkování

Ráda bych na tomto místě poděkovala všem lidem, kteří přispěli ke vzniku této práce. Především svým vedoucím diplomové práce, Evě Landové a Danielu Fryntovi, kteří strávili svůj cenný čas hodinami konzultací ohledně experimentů i metodiky chovu. Bez jejich pomoci a prostředků by tato práce nemohla nikdy vzniknout.

Dále bych poděkovala Lukáši Kratochvílovi, který mi poskytl část materiálu, prostor a cenné rady v začátcích mé experimentální práce. A dále také všem lidem, jmenovitě Veronice Musilové, Pavlíně Ševčíkové, Štěpánce Kadochové a Petře Suchomelové, za vzornou péči o naše svěřence.

A samozřejmě bych poděkovala své rodině, kteří byli po celou dobu mého studia oporou ve všech životních situacích, abych dosáhla svých cílů. A konečně bych poděkovala svému příteli, Jerguši Jančúchovi, který se o mě staral v časech dobrých i zlých.

Obsah

1	Úvod	5
2	Literární přehled	7
2.1	Co je to druh a jak vzniká?	7
2.2	Vznik druhu hybridizací	8
2.3	Reprodukčně izolační mechanismy	10
2.4	Fitness hybridů	13
2.5	Rod <i>Eublepharis</i> Gray 1827	16
3	Materiál	22
4	Metodika chovu	26
5	Morfometrické rozlišení druhů a forem	27
5.1	Materiál	27
5.2	Metodika	28
5.3	Výsledky	32
5.4	Diskuze	41
6	Etologie mezidruhové hybridizace	43
6.1	Materiál a metodika	43
6.2	Výsledky	44
6.3	Diskuze	50
7	Líhivost, velikost vajec a mlád'at	52
7.1	Materiál a metodika	52
7.2	Výsledky	53
7.3	Diskuze	60
8	Hmotnostní růstové křivky	63
8.1	Materiál	63
8.2	Metodika	64
8.3	Výsledky	65
8.4	Diskuze	73
9	Obecná diskuze	77
10	Závěr	79
11	Literatura	80
12	Přílohy	87

1 Úvod

Na mezidruhovou hybridizaci můžeme pohlížet buď jako na jeden z důležitých faktorů zvyšujících biologickou diverzitu (vznik druhů), nebo jako na chyby v reprodukčně izolačních mechanismech (RIM) mezi druhy, které mají negativní dopady na hybridy (sterilita, snížená viabilita) a umožňují zachování čistoty rodičovských druhů. Pozitivní role mezidruhé hybridizace na diverzitu druhů byla prokázána zejména u rostlin, její role u zvířat, a zvláště pak u různých druhů obratlovců, je složitější a u některých skupin málo prozkoumaná (Dowling & Secor 1997, Lásková 2006).

U organismů s geneticky určeným pohlavím (GSD) často hybridizaci brání nekompatibilita pohlavních chromozómů. U druhů s teplotně určeným pohlavím (TSD) mohou bránit vzniku viabilních hybridů odlišná ekologická optima, např. teplota pro inkubaci vajec, ale obecně se toho moc neví.

Přinejmenším je zajímavé, že u obratlovců existují viabilní hybridy i mezi fylogeneticky velmi vzdálenými liniemi, např. u žab mezi rody *Hyla* x *Pseudodarcis* (80 mil let divergence, Wilson et al. 1974a) nebo u mořských želv čeledi Cheloniidae (až 75 mil let divergence, Karl et al. 1995).

Jako modelový organismus pro otestování vlivu hybridizace na fitness jsme zvolili dva druhy rodu *Eublepharis*, *Eublepharis angramainyu* a *E. macularius*. Pro druh *E. macularius* je prokázáno, že mají teplotně určené pohlaví (Gutzke & Crews 1988), u *E. angramainyu* se to dá předpokládat. Rodičovská generace pochází z přírody (*E. angramainyu* - Irán; *E. macularius* - Pákistán). V přírodě žijí allopatricky odděleni Íránskou vysočinou po dobu nejméně 10 mil let (Macey et al. 2000). V rámci druhu *E. macularius* rozlišujeme tři formy (VELKÁ, BÍLÁ, TMAVÁ), které se liší svým zbarvením a nejspíše i morfologií. Jelikož mají teplotně určené pohlaví, mohli by být vhodným modelem pro ověření hypotézy o nezanedbatelné roli hybridizace v evolučních speciálních procesech.

Cílem studie bylo zjistit, zda existují pre- nebo postzygotické reprodukčně izolační bariéry mezi blízkce příbuznými formami v rámci druhu *E. macularius* a mezi vzdálenějšími liniemi na úrovni druhů.

Konkrétně lze cíle definovat takto:

- V práci jsem se nejdříve pomocí morfometrických metod snažila odlišit jednotlivé formy a druhy mezi sebou.
- Zjistit, zda je možné křížit vzdálené druhy *E. macularius* a *E. angramainyu*..
- Pro srovnání vytvořit hybridy mezi formami druhu *E. macularius*.
- Otestovat přítomnost prezygotických reprodukčních bariér pomocí srovnávání epigamních projevů během páření a porovnání celkové úspěšnosti samců při kopulaci s konspecifickou či heterospecifickou samicí.
- Zjistit případný vliv postzygotických reprodukčních bariér sledováním korelátů fitness:
 - líhnivosti
 - hmotnosti vajec a mláďat po vylíhnutí pro čisté formy a druhy a pro F1, F2 a backcross hybridy
 - dynamiky růstu
 - plodnost F1 hybridů, která byla ověřována dalším křížením do F2 generace nebo zpětným křížením s rodičovskou formou
 - pokusit se vytvořit F2 hybridy mezi druhy a forem

2 Literární přehled

2.1 Co je to druh a jak vzniká?

Druhy jsou základní jednotky systematiky, ekologie a evolučních studií (Wiens & Servido 2000). Jejich vymezování je základním úkolem systematiky. Zjišťování rozdílů mezi jednotlivými druhy, nejčastěji na základě morfologických a molekulárních znaků, umožňuje rekonstrukci fylogenetických vztahů. Ty nám pak umožňují rozhodnout, které znaky jsou ancestrální a které odvozené. A navíc nám mohou osvětlit původ některých skupin živočichů, tj. odkud se předek skupiny příbuzných druhů šířil a kde např. díky izolaci specioval. Na otázku, jak moc odlišné musí být dvě skupiny, abychom je považovali za samostatné druhy, zatím neexistuje jednoznačná odpověď (Dowling & Secor 1997).

Diskuze se také vede na téma, zda druhy v přírodě opravdu existují nebo jsou to pouze umělé jednotky vytvořené člověkem. Podle Coyne & Orr (1998) je nejsilnějším důkazem pro objektivní existenci druhů fakt, že v přírodě existují dobře diferenciované sympatricky žijící skupiny, které jsou shodně rozpoznávány nezávislými pozorovateli.

Nejpoužívanější definicí druhu je koncepce biologického druhu. Druh je skupina populací, jejíž členové se mezi sebou mohou pohlavně rozmnožovat, ale jsou reprodukčně izolováni od jedinců z ostatních skupin. Tímto způsobem je zamezena výměna genů mezi populacemi a to jim umožňuje vyvíjet se nezávisle (Coyne & Orr 1998, Flegr 2005). V omezené míře se připouští i částečná výměna genů díky hybridizaci, která ovšem, podle tradičního pojetí, snižuje kvalitu hybridního potomstva a jejich fertilitu. Přírodní selekce a genetický drift tak dokáží udržet vzájemnou integritu a diferenciaci druhů (Flegr 2005). Druhy jsou rozlišovány na základě fixovaných charakteristických znaků, které jsou uvnitř druhu invariantní a které nesdílí s druhy, od kterých jsou odlišovány. Najít takový znak je v praxi velmi složité a vyžaduje prověření stovek až tisíců individuí potenciálního druhu na zjištění frekvence polymorfismů daného znaku. Téměř nulový polymorfismus daného znaku pak napovídá, že u tohoto potenciálního druhu nedochází k toku genů z jiných populací a tudíž je dostatečně izolován a je možné pokládat ho za „dobrý“ druh (Wiens & Servido 2000).

Speciace vyžaduje vytvoření reprodukčně izolačních mechanismů (RIM), které zamezí výměně genů. Nejčastějším způsobem je allopatrická speciace, kdy je původní populace rozdělena bariérou (např. hory, moře). Každá část původní populace se začne vyvíjet samostatně. Postupně se u nich hromadí jednotlivé mutace, které je geneticky a posléze i fenotypově diferencují. Pokud se rozdíl hromadí pouze účinkem genetického driftu, pak může trvat vytvoření silných RIM velmi dlouho (Beçak & Kobashi 2004, Flegel, 2005). Pokud se však zapojí i přírodní výběr, může k tomu stačit pár desítek tisíc let, např. adaptivní radiace u cichlid (Van der Sluijs et al 2008).

2.2 Vznik druhu hybridizací

K rychlé speciaci může dojít i díky hybridizaci. Role hybridizace ve zvyšování biologické diverzity u rostlin byla prokázána, ale u zvířat je stále nejasná (Beçak & Kobashi 2004, Dowling & Secor 1997, Chapman & Burke, 2007, Seehausen 2004, Grant et al. 2005). To může být dáno jak problematikou detekování hybridních taxonů, tak i negativním postojem k významu hybridizace v evoluci.

Hybridní linie mají často intermediální morfologické znaky rodičovských druhů, zvýšenou heterozygotnost v jaderných genových lokusech (nejčastěji jsou studovány allozymy) nebo zvýšený počet chromozomů. Hybridní taxon může být definován jako nezávisle se vyvíjející, historicky stabilní populace nebo skupina populací, které vlastní jedinečnou kombinaci dědičných znaků získaných z křížení jedinců dvou či více samostatných jednotek (rasa, poddruh, druh, apod.) (Dowling & Secor 1997).

K hybridizaci často dochází při pronikání populace do nového prostředí. Tehdy se také pravděpodobně zvýší rychlost přizpůsobení se náhlé se měnící podmínky v důsledku selekce. Tyto okolnosti predisponují populace k rychlé adaptivní radiaci (Seehausen 2004) jako např. u Darwinových pěnkav (Grant et al. 2005).

Ke zvýšení pravděpodobnosti hybridizace také mohou přispět změny prostředí. Například mnohačetný vznik partenogeneze u rodu *Cnemidophorus* (Teiidae) je mnohými autory přisuzován změnám podnebí během pozdního Pleistocénu, kdy opakovaně docházelo k sekundárním kontaktům a nejspíše hybridizaci populací, které byly během doby ledové izolovány v glaciálních refúgiích (Cole et al. 1990, Cole et al. 2005, Kearney & Moussalli 2003).

K hybridizacím často dochází, ať už náhodně nebo záměrně, v chovech. Například k záměrným hybridizacím dochází na čínských farmách mezi krokodýly druhu *Crocodylus siamensis* a *C. rhombifer*, protože hybridní snůšky bývají větší a mláďata rychleji rostou a jsou fertilní (Polet et al. 2002). Oblíbené je také mezi některými „chovateli“ křížit různé druhy hadů za účelem získání nových barevných kombinací a vzorů (*Elaphe guttata* x *Lampropeltis triangulum* internetové zdroje).

Nové hybridní taxony mohou vznikat několika způsoby: zvýšením počtu chromozomů (polyploidie - allopolyploidie), přeměnou reprodukčního módu na unisexuální (partenogeneze, hybridogeneze a gynogeneze) nebo rekombinací (introgrese) (Dowling & Secor 1997).

Polyploidie většinou vzniká při meióze, kdy nedojde k prvnímu redukčnímu dělení a díky tomu se vytvoří diploidní gamety. Spojením dvou diploidních gamet, tj. při křížení dvou hybridů, může vzniknout tetraploid. Častěji však dochází ke zpětnému křížení s rodičovským druhem, jehož výskyt je četnější, přičemž vzniknou triploidní jedinci tvořící triploidní gamety. Ve spojení opět s haploidní gametou vznikají také tetraploidi. Takovýto typ speciace je ale běžnější pro druhy, jež nemají chromozomálně určené pohlaví prostřednictvím diferenciovaných pohlavních chromozomů (Flegel, 2005). Tento způsob speciace je typický především pro některé rostliny (Adams & Wendel 2005) a z obratlovců pro některé ryby (Castomidae, Cobitidae, Cyprinidae) (Dowling & Secor 1997, Chenuil et al. 1999) a obojživelníky (Leptodactylidae, Hylidae, *Ambystoma*) (Beçak & Kobashi 2004, Hedges et al. 1992). U plazů je výskyt mnohem omezenější a vždy souvisí se vznikem partenogeneze a často jsou polyploidní hybridy sterilní (např. *Cnemidophorus*, *Darevskia*) (Taylor et al. 2001, Parker & Selander 1976, Manning et al. 2005, Schmidtler et al. 1994, Fu 1999).

Polyploidie je často doprovázena přechodem k unisexuality (např. partenogenetický triploidní hybridní druh *Cnemidophorus pseudolemniscatus*, Teiidae) (Cole & Dessauer, 1993), i když ne všichni unisexuální hybridy jsou zároveň polyploidní (např. diploidní partenogenetický druh *Gymnophthalmus undewoodi*, Teiidae) (Cole et al. 1990). Kombinace různých alel u F1 hybridů může způsobit narušení meiózy, kdy dojde ke zvýšení produkce neredukovaných 2n vajíček, což za určitých okolností může vést ke vzniku unisexuality (Moritz 1991). Asexuální linie jsou někdy považovány za slepou vývojovou větev, která nepřetrvá dostatečně dlouho, aby ovlivnila evoluční proces.

Nicméně variabilita DNA u některých unisexuálních linií napovídá, že jsou starší, než se dříve předpokládalo, a proto by mohly hrát svoji roli v evoluci (Hedges et al. 1992).

Vznik nového druhu rekombinací genomů rodičovských druhů je proces, který není tak okamžitý jako vznik druhu polyploidizací či přechodem k unisexualitě. Skupina vzniklých hybridů by musela být izolována od rodičovských druhů, aby se vytvořily dostatečně silné reprodukčně izolační bariéry (Dowling & Secor, 1997) podobně jako např. při allopatrické speciaci. Jinak by došlo ke splynutí s četnějšími rodičovskými druhy. Pokud by populace hybridních jedinců byla méně životaschopná, méně fertilní nebo špatně adaptovaná na ekologické podmínky, došlo by přírodní selekcí k vyloučení takovýchto jedinců, jak to i definuje koncepce přírodního druhu. Na druhou stranu, někteří nově vzniklí hybridi mohou být v daném prostředí i zvýhodněni oproti rodičovským druhům a vytlačit je z původního stanoviště nebo mohou být lépe přizpůsobeni ekologickým podmínkám, které jsou pro původní druhy suboptimální, a proto se jejich kontakt omezí na okrajové zóny (Seehausen 2004, Burke & Arnold 2001). Často je výměna genů nerovnoměrná s tendencí pro genový tok od běžných druhů ke vzácnějším (McDonald et al. 2001, Taylor & Herbert 1993).

Příkladem vzniku hybridních druhů rekombinací je u želv čeledi Geoemydidae hned několik. *Cuora serrata*, *Mauremys iversoni* a *M. pritchardi* byly popsány nejdříve jako nové druhy, ale později se přišlo na to, že jsou to hybridi. Je otázkou, zda jsou přirození nebo vznikli na želvích farmách v Číně? (Wink et al. 2000, Parham et al. 2001).

2.3 Reprodukčně izolační mechanismy

Hybridizaci brání reprodukčně izolační mechanismy. Reprodukční izolace je tradičně považována za vedlejší produkt genetické divergence během geografické izolace, protože může být adaptivní odpovědí na neutrální selekci (Saether et al. 2007). Podle neodarwinismu se dvě populace díky pohlavnímu výběru mohou snadno odlišit v samčích znacích a samičích preferencích sexuálního partnera, což může mít za následek také reprodukční izolaci mezi těmito populacemi (Coyne & Orr, 1998).

Reprodukčně izolační mechanismy (RIM) můžeme rozdělit nejprve na vnější a vnitřní. **Vnější reprodukčně izolační bariéry** existují v prostředí nezávisle na

vlastnostech organismů. Patří mezi ně například geografická nebo časová izolace, které jsou také podmínkou pro allopatrickou speciaci (Flegr 2005).

Vnitřní reprodukčně izolační bariéry jsou naopak závislé na vlastnostech organismů a vznikají či zanikají v důsledku genetických procesů, především díky mutacím a genetickým rekombinacím (Flegr 2005). Tyto vnitřní bariéry (mechanimy) můžeme dále rozlišit na prezygotické a postzygotické reprodukčně izolační mechanimy.

2.3.1 Prezygotické reprodukčně izolační mechanismy

Do těchto bariér řadíme jakýkoliv ekologický, etologický, fyziologický či biochemický faktor, který brání vzniku hybridních zygot (Flegr 2005). Vznik hybridů je například znemožněn jinými nároky na habitat, rozdílnou denní aktivitou, rozdílným reprodukčním obdobím, schopností rozpoznávat vlastní druh, různými preferencemi sexuálního partnera, odlišným epigamním chováním, nekompatibilitou reprodukčních orgánů třeba u hmyzu, gametickou nekompatibilitou nebo různými specifickými opylovači u rostlin. Největší pozornost vědců se koncentruje právě na bariéry související se sexualitou (Coyne & Orr, 1998).

Velmi dobře vyvinuté prezygotických prekopulačních bariéry mají například blízce příbuzný druh rodu *Anolis*, kde většina sympatricky žijících druhů se mezi sebou, až na pár výjimek, nekříží. Anolisové se orientují především opticky a komunikují pomocí charakteristických pohybů hlavy, především vertikálním pokyvováním, a také vystavováním svých laloků, jejichž zbarvením je druhově specifické. Anolisové jsou schopni na základě těchto druhově specifických znaků rozeznávat vlastní a cizí druh a to jim umožňuje si vybírat pouze konspecifického sexuálního partnera (Losos 2004).

Jiný příklad schopnosti rozeznávat vlastní a cizí druh byl prokázán u rosníček druhu *Hyla chrysoscelis*. Samice rozeznávají druhovou příslušnost samce podle jeho typické frekvence volání v období rozmnožování. Na základě délky volání pak odhadují jeho genetickou kvalitu (Gerhardt 2001).

Zajímavý případ prezygotické bariéry je postkopulační izolace, která byla studována například u brouků potěmníků rodu *Tribolium*. U tohoto rodu existuje jasná preference konspecifických spermií během kompetice spermií po spaření samic se samci vlastního i cizího druhu tohoto brouka (Fritzke & Arnqvist 2004).

2.3.2 Postzygotické reprodukční izolační mechanismy

Za postzygotickou bariéru považuje jakýkoliv faktor, který snižuje pravděpodobnost vývoje hybridních zygot v dospělého, reprodukce schopného jedince (Flegr 2005).

Existují 3 základní typy těchto bariér, které mohou způsobit snížení fitness hybridů: 1) jiné chromosomové uspořádání (přestavby), 2) různá úroveň polyploidie a 3) nekompatibilita různých alel, které pocházejí z rodičovských druhů (Dobzhansky, 1936, Coyne & Orr, 1998). Poslední dva typy hrají mnohem důležitější roli než chromosomové přestavby. Významná role polyploidie v procesu speciace, tedy vytvoření dostatečně silných reprodukční bariér, byla již prokázána zejména u rostlin (Adams & Wendel 2005). Význam genů ve vzniku sterility a inviability, oproti chromosomovým přestavbám, se ukazuje také významnější (Coyne & Orr, 1998).

Pokud existují mezi dvěma populacemi postzygotické reprodukčně izolační bariéry, při jejich vzájemném kontaktu bude tendence selekčním tlakem vytvořit i prezygotické bariéry, aby se zamezilo zbytečné investici do reprodukce s nekompatibilním partnerem z jiného druhu. Účinnost tohoto modelu posílení reprodukčně izolačních bariér (reinforcement model) potvrzuje fakt, že postzygotické RIM vznikají u allopatrických a sympatrických populací stejnou rychlostí, zatímco prezygotické RIM se vyvíjí rychleji u sympatrických populací. Z toho vyplývá, že sympatrické populace jsou celkově lépe reprodukčně izolované (Coyne & Orr, 1998, Flegr 2005).

Sterilita hybridů je často způsobena nekompatibilitou pohlavně vázaných genů na X či Z chromosomu (Dobzhansky, 1936). Například na Z chromozomu u ptáků (u lejsků rodu *Ficedula*) jsou kromě genů snižující fitness hybridů, i geny pro druhové rozpoznávání a preference pro sexuálního partnera, dále pak geny pro zbarvení samčího peří (Saether et al. 2007). Geny související s reprodukcí jsou tedy s větší pravděpodobností vázané na pohlavní chromozomy, než geny ovlivňující viabilitu. Experimentální a srovnávací studie přitom naznačují, že sterilita hybridů se vyvíjí mnohem rychleji než inviabilita, a proto rychlejší evoluce sterility hybridů by mohla být vedlejším produktem pohlavního výběru (Rice & Chippindale, 2002, True et al. 1996, Price & Bouvier 2002). Pohlavní chromozomy mohou být hotspot pro adaptivní speciaci (Saether et al. 2007).

Pro většinu živočichů (savci, ptáci, plazi, hmyz, motýli) s chromosomálně určeným pohlavím také platí Haldanovo pravidlo (např. Lijtmaer et al. 2003, Price & Bouvier

2002). Podle něj heterogametické pohlaví u hybridů (tj. samci s pohlavními chromozomy XY a samice s pohlavními chromozomy ZW) bude více postiženo nějakou formou snížené viability či fertility (Haldane 1922). Podle True et al. (1996) existují dvě možné příčiny tohoto pravidla: 1) recesivita nekompatibilních faktorů a 2) různá rychlost akumulace faktorů způsobujících sterilitu mezi samci a samicemi.

Z výše popsaných výsledků vyplývá, že většina komplikací během hybridizace se odehrává na pohlavních chromozomech. Co se ale stane, když pohlavní chromozomy chybí?

2.4 Fitness hybridů

Na základě několika studií se potvrdilo, že kompletní inviabilita u hybridů se vyvíjí u savců zhruba 10x rychleji než u ptáků a žab. Průměrná doba, před kterou dva druhy divergovaly a ještě jsou schopny produkovat viabilní hybridy je u savců asi 2 – 4 mil let. U ptáků a žab je to až 21 mil let (Wilson et al. 1974a, Prager & Wilson 1975, Fitzpatrick 2004). Prager a Wilson (1975) a Wilson et al. (1974b) dále uvádějí, že u savců je také mnohem rychlejší evoluce anatomických struktur a chromosomová evoluce, než je tomu u ptáků a žab, což může být důvodem jejich celkově rychlejší divergence a vzniku dostatečně silných RIM.

Price & Bouvier (2002) dále ve svých studiích na ptácích odhadují, že ztráta fertility u pěvců bude průměrně trvat 5 mil let divergence a u nepěvců až 17 mil let. Tyto údaje potvrzují již zmíněný rozdíl v rychlosti evoluce sterility a inviability, tj. infertilita se vyvíjí rychleji než inviabilita.

Inviabilita u F1 hybridů postupně roste se zvyšující se divergencí rodičovských druhů u holubů (Lijtmaer et al. 2003). To potvrdili svými výsledky i Price & Bouvier (2002) obecně pro ptáky. 62 % mezidruhových hybridů v rámci 1 rodu nemělo žádné výrazné problémy s fitness. Zdravá mláďata se však rodila z hybridizace na mezirodové úrovni už jen v 8 % případů.

Rekordmany v produkci viabilních hybridních potomků jsou pak zástupci dvou rodů žab, *Hyla* a *Pseudacris*, které divergovaly již před 80 mil. lety (Wilson et al. 1974a). U mořských želv čeledi Cheloniidae úspěšně hybridizují 4 ze 6 rodů: *Caretta*, *Erytmochelys*, *Chelonia* a *Lepidochelys*. Odhad divergence je přitom tom mezi rody *Chelonia* a *Caretta* 50 až 75 mil let (Karl et al., 1995).

Z těchto a dalších studií vyplývá, že čas potřebný k vývoji ztráty fertility a viability u hybridních potomků je často, ale ne vždy, delší, než je čas potřebný ke speciaci. Proto mnoho druhů existuje v sympatrii, aniž by měly vyvinuty dostatečně silné reprodukčně izolační bariéry (Price & Bouvier 2002). To by mohlo nasvědčovat i tomu, že hybridizací nevznikají vždy méněschopní a neviabilní hybridy, jakožto výsledek nedokonalostí reprodukčních bariér, díky ní však může dojít i ke zvyšování biodiverzity. Zdá se tedy, že selekce proti hybridům by nemusela hrát tak důležitou roli ve vymezení druhů v přírodě, jak o tom uvažuje koncepce biologického druhu. Například Sluijs et al. (2008) nenašli důkaz, že by existovala nějaká vnitřní nekompatibilita během hybridizace mezi druhy cichlid rodu *Pundamilia* ve Viktoriině jezeře. Vyvozují, že odlišné samičí preference pro sexuálního partnera pravděpodobně nevznikly evolucí proti genetickým inkompatibilitám. Studie fitness hybridů mezi sesterskými druhy je zásadní pro pochopení podstaty druhových hranic a síly, které mohou pohánět speciaci a divergenci preferencí při páření (Naisbit et al 2001).

Naopak by hybridizace mohla umožnit druhům rychle se přizpůsobit novým podmínkám, a tak adaptivně radiovat (Seehausen 2004).

Jedním z příkladů, jak může generování variability díky rekombinaci rodičovských druhů zlepšit adaptaci na změnu ekologických podmínek, je stále probíhající hybridizace Darwinových pěnkav mezi druhy *Geospiza fortis* x *G. fuliginosa* a *G. fortis* x *G. scandens*. Je známo, že tyto pěnkavy prodělaly v nedávné době adaptivní radiaci. Nové druhy se liší především tvarem zobáku a potravou, na kterou se specializovaly. Hybridy mezi těmito druhy mají intermediární znaky, jak v rozměrech a tvaru zobáku, tak v preferenci velikosti semen a ostatní potravy. Před rokem 1983 byli hybridy celkem řídkou událostí a většinou se nedožili vlastního rozmnožování. V roce 1983 v souvislosti s El Nino došlo k velkým změnám podnebí na Galapážských ostrovech, což silně ovlivnilo nabídku potravy. Hybridy se svými vlastnostmi byli této změně potravní nabídky mnohem lépe přizpůsobeni než rodičovské druhy, což zvýšilo procento jejich přežívání a umožnilo jim to zapojit se do reprodukce (Grant & Grant 1996). Časem se změnami potravní nabídky nejspíše dojde k tomu, že tyto hybridy zpětným křížením splynou s rodičovskými druhy. Nicméně variabilita generovaná hybridizací umožnila tomuto druhovému komplexu rychlou adaptaci na nečekané změny životního prostředí.

Další situace, která budí pozornost vědců, je udržování hybridních zón mezi některými příbuznými druhy. Přímé výhody a nevýhody pramenící z mezidruhového křížení mezi lejskem bělokrkým (*Ficedula albicollis*) a lejskem černohlavým (*F. hypoleuca*) studovaly Wiley et al. (2007). Ptali se, jaké výhody brání selekci proti hybridům, protože mezidruhová hybridy se ukázali být mnohem méně fertilní než rodičovské druhy. Značné snížení fertility bylo prokázáno především u samic. U samců je určení míry fertility složitější, protože u těchto druhů je velká míra mimopárové kopulace (Alatalo et al. 1990). Přesto dochází v oblastech hybridních zón k častému mezidruhovému párování.

Wiley et al. (2007) navrhli několik teoretických výhod, které by plynuly z výběru heterospecifického partnera: 1) Heterospecifičtí sociální partneři by si mohli méně konkurovat o lokální zdroje v rámci teritoria, pokud se liší v preferencích pro tyto zdroje, 2) Rozdílné niky mohou heterospecifickým rodičům umožnit nabídnout mláďatům větší diverzitu potravy. To by mohla být zásadní výhoda tehdy, pokud by byl určitý typ potravy, na který se specializuje jeden z hybridizujících druhů, nějakým způsobem omezen. 3) Pokud by se samci druhově specificky lišili ve schopnostech obstarat si a bránit kvalitnější teritorium, bylo by pro samice výhodné vybírat si samce s kvalitnějším teritoriem navzdory cizí druhové příslušnosti. 4) Pokud by se samci druhově specificky lišili v míře investice v péči o potomstvo, pak by samice mohly opět preferovat samce cizího druhu, protože by mohly mít větší šanci na vyvedení většího počtu mláďat.

Z jejich studie vyplývá, že heterospecifické páry obývaly teritoria, která byla stabilnější v množství potravní nabídky po celou sezónu, což samicím umožnilo na konci sezóny vyvést větší počet mláďat, než kdyby byla spárovaná se samcem vlastního druhu. V pozdní sezóně mají tedy samice s heterospecifickými samci přímou výhodu, která může převážit nepřímé ztráty z investic do méně fertilních hybridních potomků. Nicméně pokud se bude porovnávat jejich celkový reprodukční úspěch z páření za celou sezónu, pak žádnou přímou výhodu z preference cizího samce nemají, protože na začátku sezóny je potravy dost a konspecifické páry mají dokonce kvalitnější teritoria. Autoři svoji práci uzavírají tím, že některé nepřímé nevýhody hybridizace pocházející z genetické nekompatibility mohou za určitých okolností být vyváženy přímými zisky, které zmírní selekci pro druhové rozpoznávání (tj. proti hybridizaci). Přímé výhody

z hybridizace by mohly být důležitým faktorem pro brždění reprodukční izolace mezi sympatricky žijícími druhy (Wiley et al. 2007).

S hybridizací u plazů úzce souvisí vznik partenogeneze. Ta je mnohdy považována za slepou vývojovou větev. Nicméně některým skupinám s tímto pozměněným reprodukčním módem se podařilo rozšířit za hranice nik rodičovských druhů.

Například u gekonů rodu *Heteronotia* existuje druh *Heteronotia binoi*, jenž zahrnuje několik sexuálně rozmnožujících se a dvě partenogenetické rasy, které vznikly hybridizací. Partenogenetické rasy *H. binoi* mají největší areál, který byl vůbec zaznamenán u partenogenetických obratlovců (Moritz, 1991; Strasburg a Kearney, 2005). Žijí v Austrálii v otevřených velmi suchých habitatech se stálým nedostatkem srážek. Na mnoha územích žijí sympatricky se svými rodičovskými liniemi, které ovšem obývají jen určité distinktní niky (Kearney et al., 2003; Kearney a Shine, 2004).

Díky velkému rozšíření partenogenů by se dalo uvažovat o tom, že jsou úspěšnější než jejich méně rozšíření bisexuální příbuzní. To se v laboratorních podmínkách nepotvrdilo, protože měli o něco nižší fekunditu (Kearney a Shine, 2005), ale na druhou stranu byli oproti rodičovským rasám výkonnější v pohybové aktivitě (Kearney et al., 2005), což může být v jejich domovském pouštním prostředí limitující faktor pro přežití.

2.5 Rod *Eublepharis* Gray 1827

Rod *Eublepharis* patří do čeledě Eublepharidae, která je podle Han et al. (2004) jedna z pěti čeledí skupiny Gekkota, která čítá kolem 1180 druhů. Do této čeledi patří ještě rody *Aeluroscalabotes*, *Coleonyx*, *Goniurosaurus*, *Holodactylus* a *Hemitheconyx* (Grismer 1988, Uetz, 2008). Rod *Eublepharis* obsahuje 5 druhů: *E. macularius*, *E. fuscus*, *E. hardwickii*, *E. turcmennicus* a *E. angramainyu* (Grismer 1991, Seufer et al. 2005).

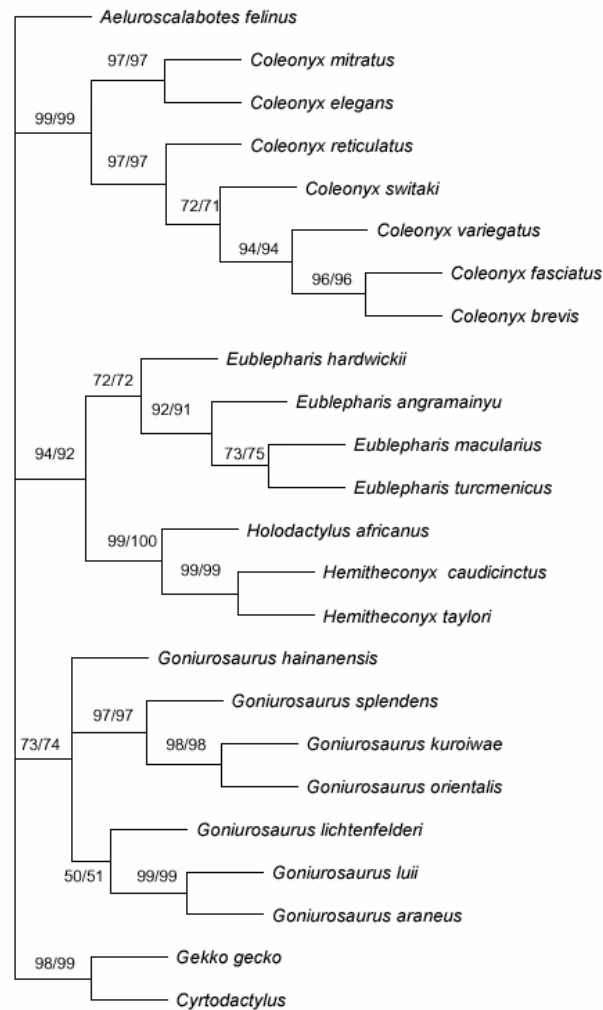
Tito pozemní středně velcí gekončící obývají distinktní oblasti Blízkého Východu až po Indii. Jsou noční a přes den jsou ukryti ve štěrbinách. Některé druhy jsou od sebe těžko morfologicky rozpoznatelné (Grismer 1988, Grismer 1991). Oproti pravým gekonům se liší především v přítomnosti pohyblivých očních víček a kožovitými obaly jejich vajec. Na prstech mají dráčky, které využijí při šplhání po hrubých materiálech, např. skalách. Typický je pro ně tlustý ocas, který slouží jako zásobárna tuku a tekutin.

Jsou schopni autotomie ocasu, což pro ně znamená velkou energetickou ztrátu. V závislosti na množství dostupné potravy jim celkem rychle naroste regenerát, který však nedosahuje původní velikosti a občas mívá srdčitý tvar (vlastní pozorování, pers. observ.).

Podobně jako jiní gekoni mají invariantní snůšku 2 vajec (Kratochvíl & Frynta, 2006). Během sezóny samice klade několik snůšek. K oplodnění všech vajec jí stačí jedna kopulace, protože je schopna si uchovávat spermie velmi dlouhou dobu (někdy i do začátku další reprodukční sezóny, pers. observ.). Mláďata mají typický proužkovaný vzor, který se jim během ontogeneze rozpadá.

V jejich jídelníčku figurují např. sarančata (kobylky), škorpióni, pavouci, brouci a další členovci i drobní obratlovci.

Příbuznost jednotlivých druhů na základě morfologických znaků řešil ve své práci Grismer (1991). Jako sesterské skupiny vyšly druhy *E. macularius* a *E. turcmenicus*, k nim vdálenější druh *E. angramainyu* a nejdříve se oddělil *E. hardwickii*. Tento výsledek potvrdila na morfologických a molekulárních datech ve své diplomové práci i Zuzana Starostová (2004) viz Obr. 1.



Obr. 1 Fylogenetický strom použitím metody „total evidence“ převzato od Starostová (2004)

2.5.1 *Eublepharis angramainyu* Andreson and Leviton 1966

E. angramainyu je druhým největším zástupcem rodu *Eublepharis*. Jsou sexuálně dimorfní; samec je zřetelně větší. Rozměr SVL (snout to vent – od rostra po kloaku) je pro samce max. 170 mm, pro samice je to zhruba 156 mm (Kratochvíl & Frynta 2002).

Je znám pouze z několika míst SZ Íránu, S a SV Iráku, SV Sýrie a v JV Turecka viz Obr. 2 (Göçmen et al. 2002, Seufer et al. 2005). Žije na západní části pohoří Zagros a v horní části bývalé Mezopotámie, mezi Eufratem a Tigridem v nadmořské výšce od 300 do 1000 m nad mořem. Obývá kamenité stepní biotopy s minimem vegetačního pokryvu, ale s dostatkem roklí a škvír pro úkryty. Z tohoto důvodu také využívá i rozpadající se ruiny bývalých stavení (Frynta pers. comun., Saufer et al. 2005). O jejich reprodukci a sociálním chování neexistují v odborné literatuře skoro žádné záznamy.



Obr. 2 Geografické rozšíření *E. angramayniu* (Saufer et al. 2005)

2.5.2 *Eublepharis macularius* Blyth 1954

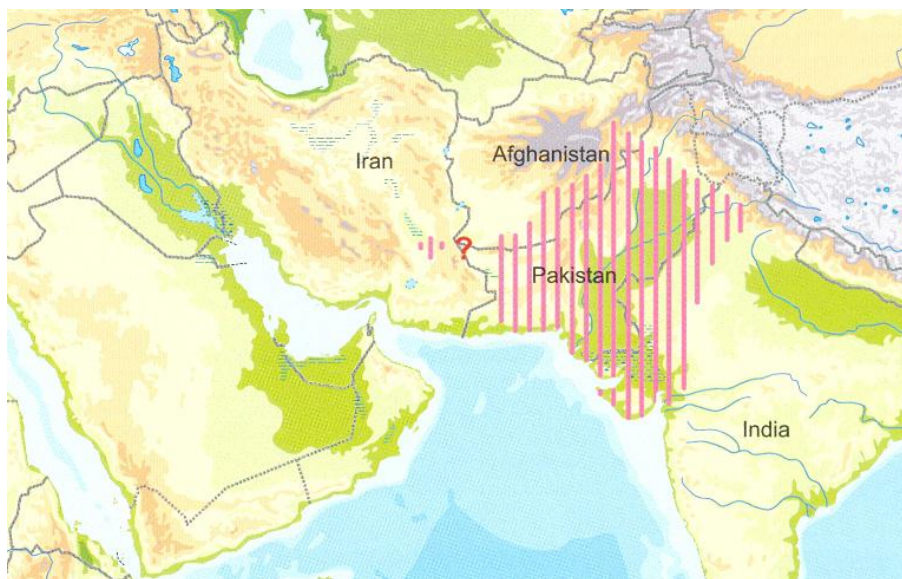
E. macularius vykazuje, stejně jako *E. angramayniu*, velikostní sexuální dimorfismus: max. SVL samce je zhruba 138 mm a pro samici je to kolem 129 mm (Kratochvíl & Frynta 2002). Ve zbarvení a vzoru je tento druh velmi variabilní a je možné, že uvnitř tohoto druhu existuje více divergentních forem (Saufer et al. 2005).

Rozšířen je ve V a J Afghánistánu, Pákistánu a SZ Indii (Obr. 3). Nicméně přesné hranice tohoto rozšíření nejsou jasné. Dokonce existují dohady, že by se mohl sympatricky vyskytovat na některých územích v Indii spolu s *E. fuscus*. Obývá kamenité stepi od nížin po hory, kde maximálně vystupuje do výšky 2500 m nad mořem. V jižní části areálu obývá i subtropický suchý les či křoviny. V této oblasti je díky blízkosti Arabského moře celkově větší vlhkost než na severu jeho areálu rozšíření, což může do určité míry ovlivnit jeho biologii. Aktivní je večer a v noci, přes den je ukrytý pod kameny nebo ve štěrbinách. Optimální teplota vzduchu je zhruba 26,5°C (Seufer et al. 2005).

Podobně jako *E. angramayniu* mají sezónní aktivitu. Zhruba od října do března mají období klidu, kdy nepřijímají potravu. Období reprodukce začíná na začátku března a končí na podzim. Spouštěcími faktory jsou: zvyšující se délka dne, vzrůstající teplota a vlhkost. Samci jsou teritoriální a agresivní vůči jiným samcům. Své teritorium si značí výměšky preanálních pórů (Brandstaetter 1992). Na základě pachu jsou schopni rozeznávat pohlaví (Mason & Gutzke 1990), rozlišovat známé a cizí samice a také mezi dvěmi známými samicemi (Steele & Cooper 1997, LaDage & Ferkin 2006). V době reprodukce se samci dvoří vibrováním ocasu a zakusováním do ocasu a šije samice.

Samec se trhavými pohyby postupně dostává do paralelní pozice k samici a snaží se podstrčit svůj ocas pod ocas samice. Pokud je samice receptivní, nadzdvihne ocas a umožní tak kopulaci. Pokud je nereceptivní, brání se kousáním a snaží se utéct (Guzke & Crews 1988). Samice snáší asi po 20 dnech první snůšku. Za sezónu může snést až 6 snůšek. Mláďata se líhnou zhruba po dvou měsících. Inkubační doba je přímo závislá na teplotě. Při vyšších teplotách se vývoj embryí zrychluje.

E. macularius je jedním z druhů, který má teplotně určené pohlaví (TSD). Na toto téma vzniklo mnoho studií, protože inkubační teplota neovlivňuje pouze pohlaví, ale i chování (agresivitu, epigamní chování, jiné preference sexuálního partnera, značení teritoria, morfologii, rychlost dospívání ...) (Bull 1987, Guzke & Crews 1988, Flores et al. 1994, Tousignant et al. 1995, Rhen et al. 1999, Sakata & Crews 2003, Putz & Crews 2005). Pokud si samice sama může vybrat teplotu pro inkubaci vajec, volí průměrně 28,7°C (Bragg et al. 2000).

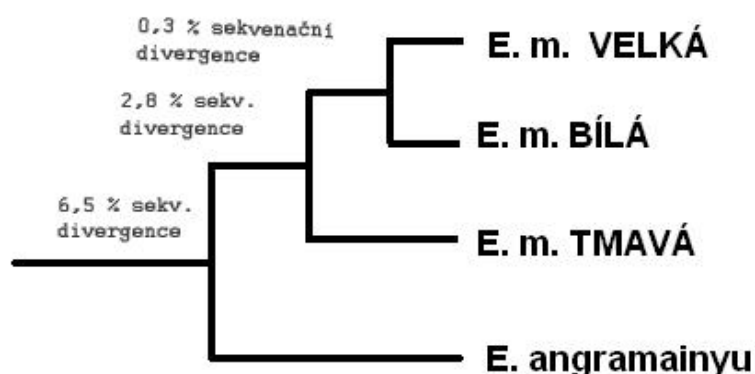


Obr. 3 Geografické rozšíření *E. macularius* (Sauer et al. 2005)

2.5.3 Genetická divergence mezi formami druhu *E. macularius* a druhem *E. angramainyu*

V rámci druhu *E. macularius* dají rozlišit tři odlišné morfotypy: TMAVÁ, BÍLÁ a VELKÁ forma (viz. kapitola Materiál). Podle sekvenční divergence ribozomální mtDNA (Starostová 2004) jsou si BÍLÁ a VELKÁ forma nepříbuznější (jen 0,3 % sekvenční divergence). Od nich se liší TMAVÁ forma 2,8 % sekv. divergence. Druh

E. angramainyu se od druhu *E. macularius* liší v 6,5 % sekv. divergence (Obr. 4). Podle Vences (2004) a Zamudio (1997) a jejich odhadů rychlosti divergence se TMAVÁ forma od ostatních forem druhu *E. macularius* oddělila zhruba před 2 až 6 mil lety a BÍLÁ a VELKÁ před necelým 1 mil let. Druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* se oddělily odhadem před 5 - 16,5 mil lety. Jelikož jsou tyto druhy odděleny Íránskou vysočinou, je velmi pravděpodobné, že divergovaly minimálně před 10 mil lety, kdy došlo k jejímu vyzdvižení (Macey et al. 2000). Existuje však hypotetická možnost, že někteří jedinci by mohli migrovat podél pobřeží, a proto se nedá vyloučit, že během historie mohlo docházet ke kontaktu obou druhů.



Obr. 4 Fylogenetické vztahy a sekvenční divergence 12S a 16S mitochondriální mtDNA (Starostová 2004); E.m. – *E. macularius*.

3 Materiál

V mé práci jsem se zabývala dvěma druhy rodu *Eublepharis* (Eublepharidae), *Eublepharis macularius* a *E. angramainyu*. Pro shromáždění dat pro morfometrii a chování *E. angramainyu* jsem využila především jedince od soukromého chovatele pana Makovce.

V chovech se nacházela zvířata různého původu. Část z nich pochází z přírody (*E. macularius* – Pákistán, *E. angramainyu* - Írán) a část už je z odchovu. Podrobnější informace o původu a množství jedinců v jednotlivých experimentech uvádím v každé části zvlášť.

V práci používám několik označení a zkratk pro jednotlivé skupiny zvířat. V rámci druhu *E. macularius* rozlišuji následující typy:

- VELKÁ forma – přírodní zbarvení typické pro gekončíka nočního, velký podíl žlutého zbarvení, mláďata typicky černožlutě pruhovaná (Obr. 5, Obr. 6). Zkratka – V.
- BÍLÁ forma – světlejší varianta, větší podíl bílé až světle žluté, mláďata jsou spíše černobíle pruhovaná a na hlavě se objevují modré skvrnky (Obr. 7, Obr. 8). Zkratka – B.
- TMAVÁ forma – tmavší varianta, výrazně větší podíl černého zbarvení, mláďata jsou černožlutá s převládající černou barvou a na hlavě bývají zelené skvrnky (Obr.9, Obr. 10). Zkratka – T.
- LABORATORNÍ – takto jsme nazývali jedince, kteří byli po generaci odchováni v zajetí a jsou nejistého původu. Nejčastěji se ve zbarvení podobají VELKÉ formě. Zkratka – LAB, L .
- HYBRIDI FOREM – zvířata vytvořená křížením jednotlivých forem (F1 generace) a dále jejich potomci vzniklí vzájemným křížením hybridů (F2 generace) nebo zpětným křížením s rodičovskými formami (BACKCROSS generace). Hybridi zdědili zbarvení buď po jednom z rodičů nebo nesou znaky obou rodičovských linií. Jednotlivé zkratky vycházejí z kombinace křížení rodičovských forem, kdy na prvním místě je vždy forma samice a na druhém samce, např. V x B – hybrid z křížení VELKÉ samice a BÍLÉHO samce. Zpětné křížení bylo provedeno pouze pro hybrida V x T a to s rodičovskou VELKOU formou: **V x (V x T)**. Přehled kombinací je uveden v Tab. 1 a Tab. 2.

Tab. 1 Kombinace křížení forem druhu *E. macularius* a označení F1 hybridů; tučně jsou označeny kombinace křížení, která se povedla

Samice x Samec	V	B	T
V		V x B	V x T
B	B x V		B x T
T	T x V	T x B	

Tab. 2 Kombinace křížení F1 hybridů forem a dvojí označení F2 hybridů; tučně jsou označeny kombinace křížení, která se povedla

Samice x Samec	V x B	V x T	B x V	B x T	T x V	T x B
V x B	F2 - V x B VB x VB					
V x T		F2 - V x T VT x VT				
B x V			F2 - B x V BV x BV			
B x T				F2 - B x T BT x BT		
T x V					F2 - T x V TV x TV	
T x B						F2 - T x B TB x TB

Dále rozlišují čistý druh *E. angramainyu* a jeho hybridy s druhem *E. macularius*.

- *E. angramainyu* – celkově větší než *E. macularius*, ve zbarvení větší podíl žluté barvy. Zkratka – **EA** nebo **A** (Obr. 11 a Obr. 12)
- Mezidruhovní hybridy – vždy jako kombinace samice *E. macularius* a samec *E. angramainyu*. Zkratka – **EM x EA**. (Obr. 13 a Obr. 14). Dále pak byla snaha vytvořit jejich F2-hybridy (**F2 – EM x EA**). Při backcrossu byl hybridní samec křížen se samicí VELKÉ formy druhu *E. macularius*, tj. **V x (EM x EA)**.



Obr. 5 VELKÁ forma *E. macularius*, adult



Obr. 6 VELKÁ forma *E. macularius*, mládě



Obr. 7 BÍLÁ forma *E. macularius*, adult



Obr. 8 BÍLÁ forma *E. macularius*, mládě



Obr. 9 TMAVÁ forma *E. macularius*, adult



Obr. 10 TMAVÁ forma, mládě



Obr. 11 E. angramainyu, adult



Obr. 12 E. angramainyu, mládě



Obr. 13 Hybrid mezi E. macularius a E. angramainyu, adult



Obr. 14 Hybrid mezi E. macularius a E. angramainyu, mládě

4 Metodika chovu

Všechna adultní zvířata použitá v pokusech byla ubytována samostatně nebo po dvou ve skleněných teráriích o rozměrech 30 x 30 x 20 cm. Mláďata do 1 roku byla umístěna v dobře větraných plastových boxech o rozměrech 15 x 15 x 10 cm. Jako substrát byla v teráriích použita mulčovací kůra. V plastových boxech byla drť z kokosových ořechů Lignocel. V každém teráriu i boxu bylo dostatek úkrytů z papíru a dále miska na vodu a červy (larvy potemníka moučného).

Zvířata byla krmena 1x týdně cvrčky a červy, kteří byli dostatečně obaleni ve vitamínové směsi Roboran H. Dále jim byla podávána voda, která byla střídavě obohacena buď o kalcium (1 tableta / 1,5 l vody) nebo o vitamíny A, D3 a E (10 kapek roztoku vitamínů A a D3 / 1,5 l vody a 10 kapek vitamínu E/ 1,5 l vody).

Samicím, které se spářily se samcem, byly do terária vloženy boxy s otvorem pro kladení vajec. Ty byly naplněny vrstvou vlhkého Lignocelu a byly pravidelně kontrolovány a vlhčeny. Nalezená vajíčka byla vážena a každá snůška byla samostatně ukládána do malé krabičky s navlhčeným Lignocelem. O každé snůšce byla vedena podrobná dokumentace, tj. identita samice, která snůšku snesla, dále datum snesení a váha vajíček. Samice byla na začátku rozmnožovací sezóny také zvážena. Krabičky s vajíčky byly přeneseny do inkubátoru, který byl nastaven pro druh *E. macularius* na 28,5°C, což je optimální teplota, kterou zvířata sama preferují (Bragg et al. 2000) a pro druh *E. angramainyu* na 26°C. Po vylíhnutí mláďat bylo každé mládě zváženo a bylo zapsáno datum líhnutí. Všechny tyto údaje byly zapisovány jak do tabulky v Excelu, tak na jednotlivé boxy. Mláďata byla ubytována do výše zmíněných plastových boxů většinou samostatně.

Všechna zvířata se nacházela v jedné místnosti s okny a měla ponechána přirozený světelný režim z denního světla. Teplota v místnosti byla udržována v rozmezí 27 – 29°C. Zdroji tepla bylo ústřední topení (v zimě) a topné kabely.

5 Morfometrické rozlišení druhů a forem

5.1 Materiál

K dispozici jsem měla 3 morfotypy druhu *E. macularius*, které jsme si pracovně nazvali VELKÁ, BÍLÁ a TMAVÁ forma. Přiřazení jednotlivých zvířat do skupin bylo na základě barevné diferenciaci zvířat třemi nezávislými hodnotiteli (Frynta, Landová a Kratochvíl). Navíc jedinci BÍLÉ a VELKÉ formy pocházející z Pákistánu přišli ve dvou oddělených exportech, takže se dá předpokládat, že pochází z různých lokalit. Většina zvířat použitých v této morfologické analýze byla původem z přírody.

Dále jsem měla k dispozici jedince druhu *E. angramainyu*. Část těchto jedinců pocházela také z přírody (Írán) a část byla již z odchovu. Pro tuto analýzu byli použiti pouze dospělí jedinci (min stáří 2 roky).

Tab. 3 Zastoupení samců a samic v analýze

		Původ	Samec	Samice	Celkový počet
<i>E.macularius</i>	VELKÁ	Pákistán	11	14	25
		Odchov	0	13	13
	BÍLÁ	Pákistán	9	20	29
		Odchov	2	7	9
	TMAVÁ	Pákistán	6	10	16
		Odchov	3	4	7
<i>E. angramainyu</i>		Írán	3	3	6
		Odchov	6	9	15
<i>Celkem</i>			40	80	120

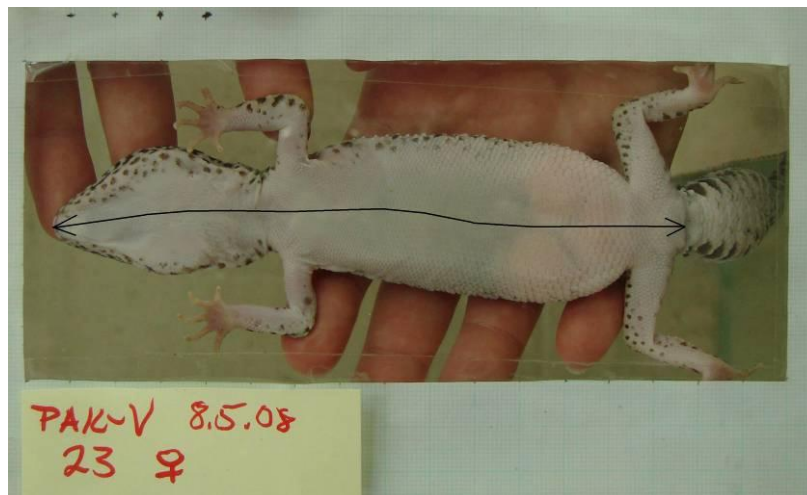
5.2 Metodika

5.2.1 Rozměry

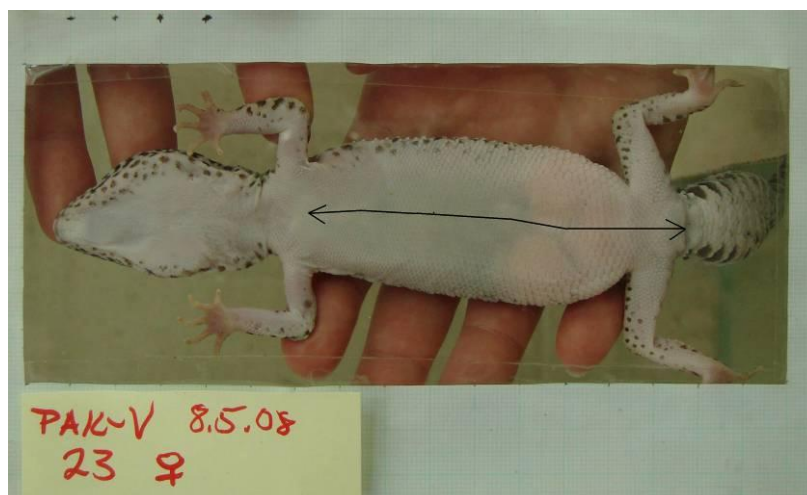
U každého jedince bylo zaznamenáno pohlaví, váha s přesností na 0,01 g a pomocí digitálního fotoaparátu bylo pořízeno několik snímků, které zachycovaly požadované části těla. Pro tyto účely jsme použili terárium, na jehož boční stěně byl přilepen milimetrový papír s vystřiženým obdélníkovým otvorem. Zvířata byla přikládána do středu tohoto rámečku. Fotoaparát byl usazen do stativu kolmo ke stěně terária. Digitální snímky pak byly zpracovány pomocí programu UTHSCSA *Image Tool*. Tento program je volně dostupný na internetu (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Pro kalibraci byl použit rámeček z milimetrového papíru a délkové rozměry byly měřeny s přesností na 0,01mm. Pro analýzu byly měřeny následující rozměry na ventrální straně těla:

- **SVL** – délka těla (snout to vent lenght), od rostra po přední okraj kloaky (Obr. 15)
- **brich1** – délka břicha, od kaudální strany nasazení předních končetin po přední okraj kloaky (Obr. 16)
- **brich2** – délka břicha, od šupin krčního lemu po přední okraj kloaky (Obr. 17)
- **fem** – délka femurů, délka mezi distálními konci femurů (Obr. 18)
- **tibia** – délka tibie (Obr. 19)
- **humer1** – délka humeru, od nasednutí přední končetiny k tělu po distální konec humeru (Obr. 20)
- **humer2** – délka humeru, od středu těla po distální konec humeru (Obr. 21)
- **ulna** – délka ulny (Obr. 22)
- **fing** – délka prostředního prstu na přední končetině bez drápků (finger) (Obr. 23)
- **HW** – šířka hlavy (head width) – v nejširším místě (Obr. 24)
- **HL** – délka hlavy (head lenght) – od rostra po distální konec krčního lemu (Obr. 25)

Metodiku jsem z velké části přebrala z diplomové práce Margaréty Baladřové (2006). Délka ocasu byla nakonec z analýzy vyloučena, protože většina zvířat z přírody měla úplný či částečný regenerát.



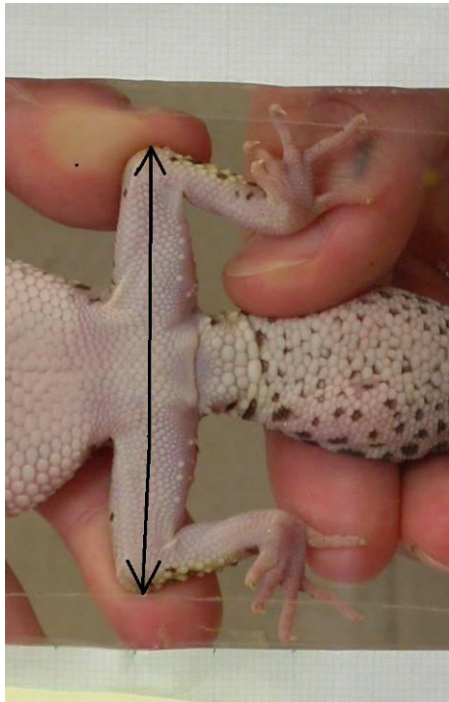
Obr. 15 SVL



Obr. 16 Brich1



Obr. 17 Brich2



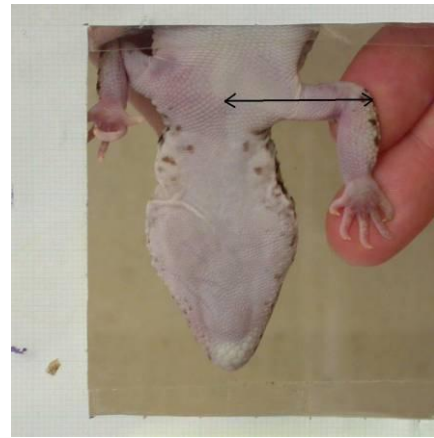
Obr. 18 Fem



Obr. 19 Tibia



Obr. 20 Humer1



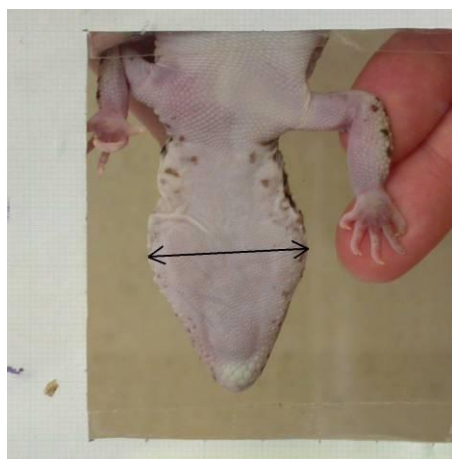
Obr. 21 Humer2



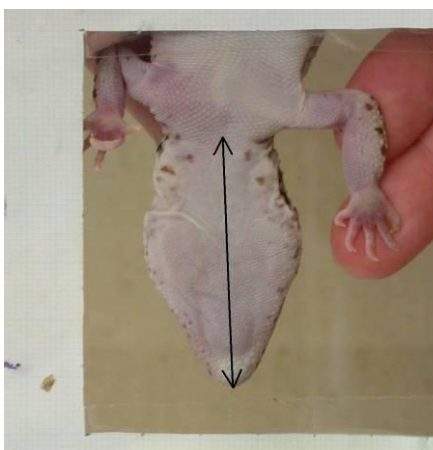
Obr. 22 Ulna



Obr. 23 Fing



Obr. 24 HW



Obr. 25 HL

5.2.2 Statistika

Naměřené rozměry a hmotnosti byly transformovány přirozeným logaritmem (normalizace dat) a dále byly analyzovány v programu STATISTICA 6.0. Na data byla použita analýza hlavních komponent (PCA).

Pro zhodnocení vlivu pohlaví a FORMY na jednotlivé hlavní komponenty z PCA byla použita analýza variance (ANOVA). Pro každého jedince byly nejdříve vypočítány factor scores PC1 a PC2 (Příloha 2). Do analýzy pak byly zadány jako vysvětlující faktory zadány FORMA a SEX a jejich interakce.

Dále byla použita diskriminační analýza (DFA). Nejprve byla použita logaritmicky transformovaná data a následně z nich byla Mosimanovou metodou odfiltrovaná velikost (Slábová & Frynta, 2007).

Následně byla použita na stejná data CVA, která roztrídila jedince na základě změřených parametrů do předem stanovených forem. Byly počítány také Mahalanobisovy vzdálenosti jako vzdálenosti mezi vektory středních hodnot daných forem v morfoprostoru. Na základě těchto vzdáleností byly sestaveny dva fenetické stromy pomocí shlukové analýzy metodou UPGMA, jednou pro logaritmicky transformovaná data a podruhé pro data s odfiltrovaným vlivem velikosti pomocí Mosimannovy transformace.

Poznámka ke grafům: Na grafu Obr. 29 a jím podobným dále v textu ponechám spojnice mezi průměry/mediány, i když se nejedná o ordinální proměnnou (správně by znázorněny být neměly), ale umožňují čtenáři rychle odečítání rozdílů mezi průměry/mediány.

5.3 Výsledky

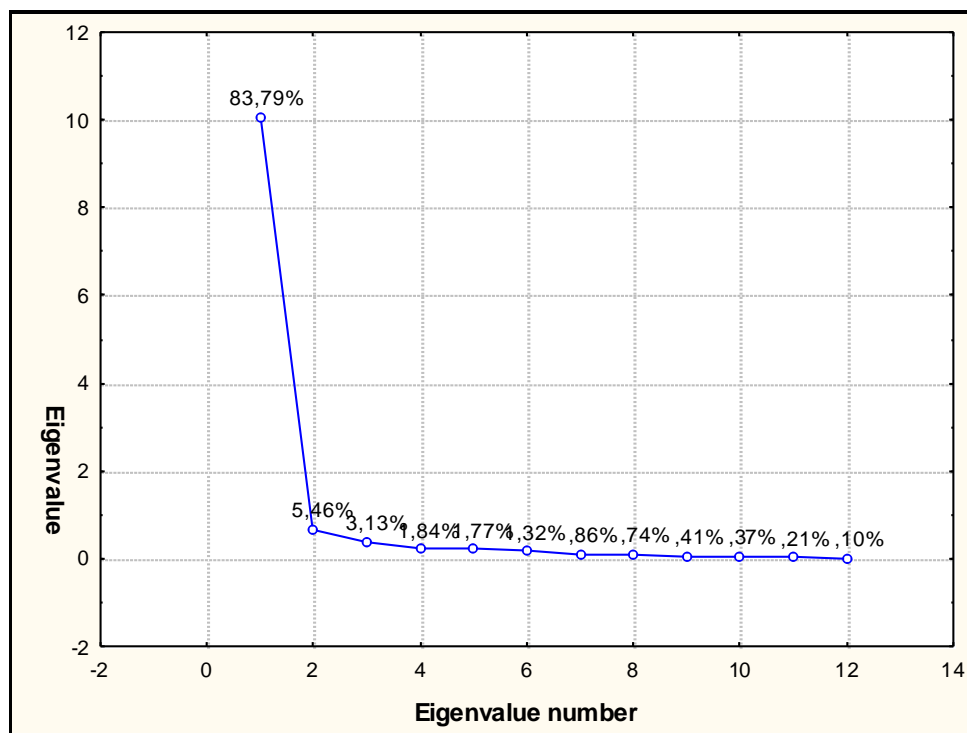
5.3.1 Analýza hlavních komponent (PCA)

Do analýzy hlavních komponent vstupovalo 11 délkových rozměrů a jeden údaj o celkové hmotnosti zvířete z doby, kdy byly pořízeny digitální fotografie pro následné měření. Všechny parametry byly logaritmicky transformovány, aby se jejich rozložení přiblížilo normálnímu.

Interpretovatelné byly pouze první 2 osy (Tab. 4, Obr. 26).

Tab. 4 Hodnoty Eigenvalue - kolik variability lze vysvětlit prvními dvěmi komponentami

	Eigenvalue	% Total	Cumulative	Cumulative
1	10,05	83,79	10,05	83,79
2	0,66	5,46	10,71	89,25



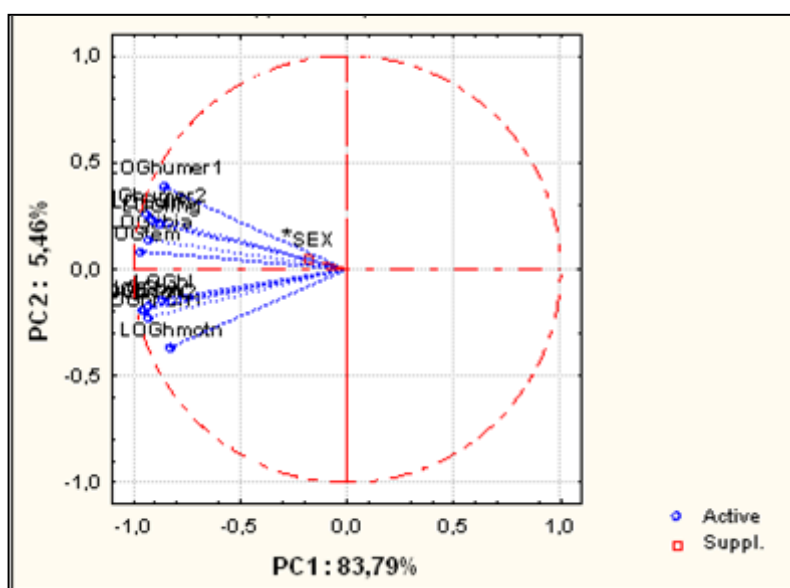
Obr. 26 Grafické znázornění eigenvalues a procento variability, které vysvětlují

V tabulce uvádím korelace jednotlivých parametrů s hlavními komponentami PC1 a PC2. Všechny hodnocené parametry silně negativně korelují s první hlavní komponentou (PC1) a lze ji tedy interpretovat jako velikost. Pohlaví jako doplňkový parametr s PC1 koreloval také negativně a slabě (Obr. 27).

S PC2 pozitivně korelovaly proměnné rozměrů předních a zadních končetin a třetího prstu na přední končetině: LOGfem, LOGtibia, LOGhumer1, LOGhumer2, LOGulna a LOGfing. Negativně korelují délkové rozměry trupu, dále rozměry hlavy a hmotnost (Tab. 5).

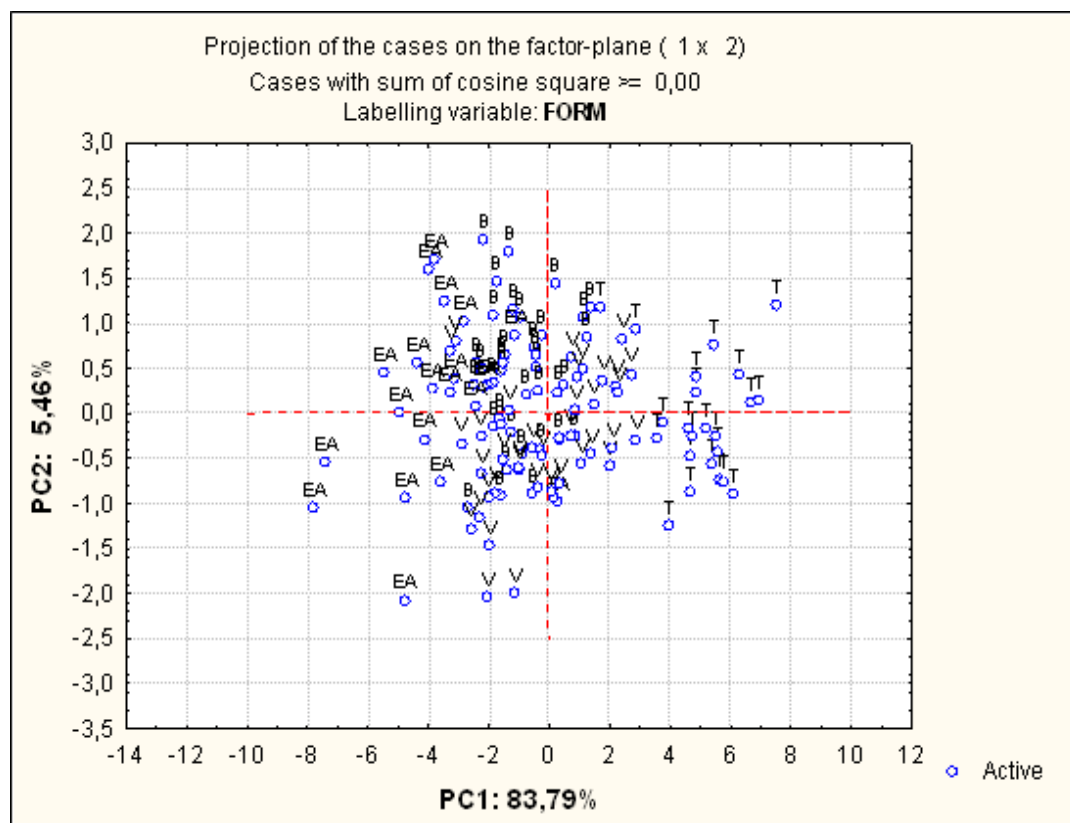
Tab. 5 Korelace jednotlivých parametrů s hlavními komponentami PC1 a PC2, modře – pozitivní korelace

	PC1	PC2
LOGhmotn	-0,832	-0,368
LOGsvl	-0,957	-0,188
LOGbrich1	-0,934	-0,233
LOGbrich2	-0,954	-0,195
LOGfem	-0,972	0,082
LOGtibia	-0,930	0,139
LOGhumer1	-0,859	0,391
LOGhumer2	-0,941	0,253
LOGulna	-0,914	0,233
LOGfing	-0,878	0,208
LOGhw	-0,935	-0,174
LOGhl	-0,868	-0,145



Obr. 27 Projekce proměnných na prvních dvou osách hlavních komponent. Všechny rozměry negativně korelují s PC1. S PC2 negativně korelují rozměry trupu, hlavy a hmotnost. Pozitivně korelují délkové rozměry na končetinách.

Při projekci jednotlivých jedinců na osy hlavních komponent PC1 a PC2, se podle PC1 jedinci TMAVÉ formy odlišují od ostatních. Na úplně opačné straně se řadí jedinci druhu *E. angramainyu* (EA). Mezi druhem *E. angramainyu* a TMAVOU formou jsou zobrazeni jedinci BÍLÉ a VELKÉ formy, kteří se prolínají (Obr. 28).



Obr. 28 Projekce jedinců na první dvě osy hlavních komponent. EA – *E. angramainyu*; B – BÍLÁ forma, V – VELKÁ forma a T – TMAVÁ forma *E. macularius*

5.3.2 Analýza variance ANOVA

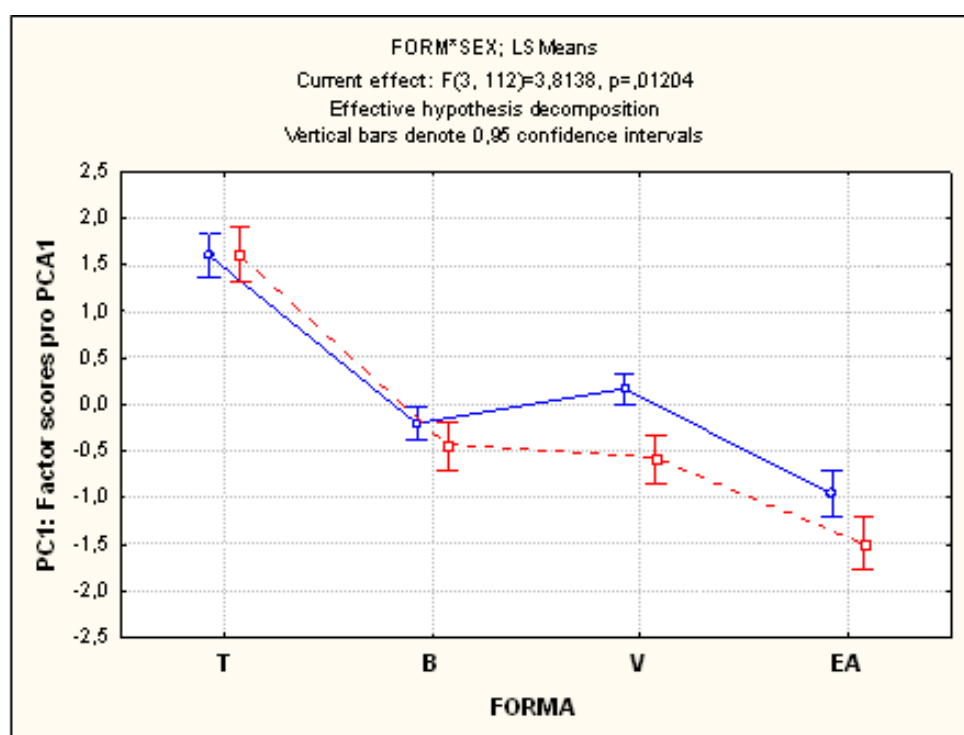
Zahrneme-li do modelu nejen formu, ale i pohlaví a jejich vzájemnou interakci, všechny tyto tři faktory v PC1 jsou průkazné (Tab. 6). Pro PC2 vyšla zcela průkazně pouze forma ($F_{(112, 3)}=6,027$, $p=0,0008$) a na hranici průkaznosti interakce formy a pohlaví. Samotné pohlaví je nesignifikantní (Tab. 7). Z grafu Obr. 29 je zjevné, že jedinci jsou v rámci své formy dimorfní (především VELKÁ forma *E. macularius* a *E. angramainyu*), nicméně forma přesto vysvětluje většinu variability mezi všemi jedinci v této analýze. Proto v dalších analýzách budu používat obě pohlaví dohromady.

Tab. 6 Závislost Factor scores PC1 na formě, pohlaví a jejich interakci

PC1	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	0,13	1	0,13	0,67	0,4161
FORM	91,18	3	30,39	159,67	<0,0001
SEX	3,57	1	3,57	18,75	<0,0001
FORM*SEX	2,18	3	0,73	3,81	0,0120
Error	21,32	112	0,19		

Tab. 7 Závislost Factor scores PC2 na druhu a pohlaví a jejich interakci

PC2	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	0,00	1	0,00	<0,01	0,9601
FORM	15,29	3	5,10	6,03	0,0008
SEX	0,98	1	0,98	1,16	0,2834
FORM*SEX	6,81	3	2,27	2,69	0,0500
Error	94,70	112	0,85		



Obr. 29 Graf závislosti Factor scores PC1 na formě a pohlaví. T – TMAVÁ, B – BÍLÁ, V – VELKÁ forma *E.macularius*, EA – *E. angramainyu*. Samci – červeně, samice – modře.

5.3.3 Diskriminační analýza (DFA)

Do diskriminační analýzy vstupovaly stejné proměnné jako v případě PCA. Data byla nejdříve logaritmicky transformována.

Zatřídění jedinců na základě jednotlivých proměnných je celkem vysoká (Tab. 8). Se 100% úspěšností je zařazována TMAVÁ forma. O něco s menší úspěšností byli zařazováni jedinci druhu *E. angramainyu* (90%). Dva nejmenší jedinci tohoto druhu byli zařazeni mezi BÍLOU formu. Méně spolehlivě byla zařazována BÍLÁ a VELKÁ forma.

Tab. 8 Klasifikační matice Wilksova Lambda: 0,0637; $F_{(36,310)}=13,30$; $p<0,0001$

	Procenta	T	B	V	EA
T	100,00	23	0	0	0
B	81,58	0	31	7	0
V	84,21	0	6	32	0
EA	90,48	0	2	0	19
Total	87,50	23	39	39	19

Na správném rozřazování do jednotlivých forem se nejvíce podílí hmotnost a délka femurů. Dále pak délka prstu, SVL a délka břicha (brich1) (Tab. 9). Z Mahalanobisových vzdáleností (Příloha 3) je patrné, že nejvíce se od ostatních odlišuje TMAVÁ forma *E. macularius*.

Tab. 9 Souhrn proměnných vstupujících do DFA a jejich příspěvek k správné klasifikaci v DFA

	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
LOGhmotn	0,08	0,78	9,60	<0,0001	0,44	0,56
LOGsvl	0,07	0,91	3,59	0,0162	0,07	0,93
LOGbrich1	0,07	0,92	3,15	0,0280	0,08	0,92
LOGbrich2	0,07	0,94	2,11	0,1037	0,05	0,95
LOGfem	0,08	0,79	9,40	<0,0001	0,16	0,84
LOGtibia	0,07	0,96	1,34	0,2640	0,39	0,61
LOGhumer1	0,07	0,95	1,95	0,1264	0,38	0,62
LOGhumer2	0,07	0,97	1,09	0,3583	0,21	0,79
LOGulna	0,06	0,98	0,62	0,6004	0,33	0,67
LOGfing	0,07	0,85	6,00	0,0008	0,74	0,26
LOGhw	0,07	0,96	1,59	0,1973	0,31	0,69
LOGhl	0,06	0,98	0,64	0,5925	0,33	0,67

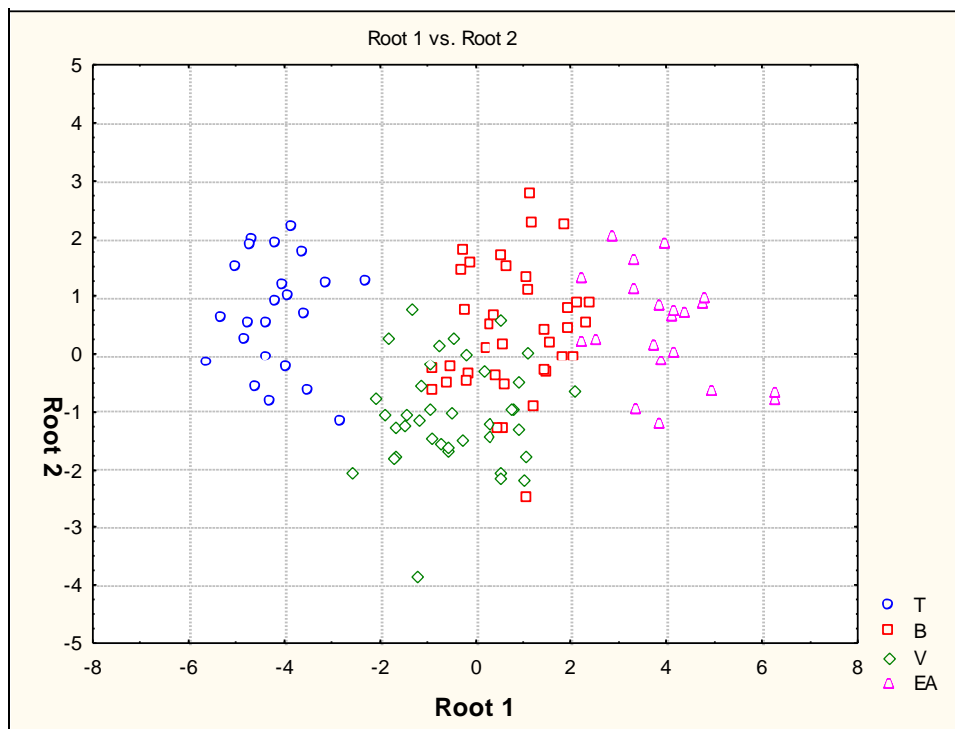
Pokud byl z dat odstraněn efekt velikosti Mosimannovou transformací, celkový diskriminační model klasifikoval jedince do forem s nižší spolehlivostí (Tab. 10). V 90% jedinců správně zařadil do druhu *E. angramainyu*. Pouze 2 jedince považoval za BÍLOU formu. TMAVOU formu třikrát zaměnil za VELKOU. BÍLOU a VELKOU formu rozřazoval s zhruba 70% spolehlivostí, protože, podobně jako v analýze logaritmičky transformovaných dat, je navzájem zaměňoval. Na správné klasifikaci se opět nejvíce podílela hmotnost a délka břicha (brich1) a délka prstu, nové pak ještě délka humeru. Na hranici průkaznosti vyšel ještě vliv délky femuru a tibie (Příloha 4). Z Mahalanobisových distancí se tentokrát nejvíce diferencuje druh *E. angramainyu* (Příloha 5).

Tab. 10 Klasifikační matice Wilksova Lambda: 0,1215, $F_{(33, 312)}=9,91$; $p<0,0001$

	Procenta	T	B	V	EA
T	86,96	20	0	3	0
B	73,68	1	28	8	1
V	71,05	3	8	27	0
EA	90,48	0	2	0	19
Total	78,33	24	38	38	20

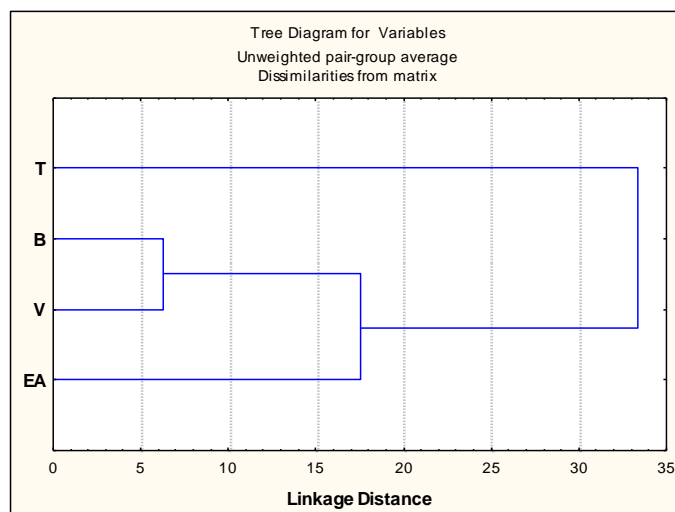
5.3.4 Kanonická analýza (CVA)

Obě kanonické osy v analýze logaritmičky transformovaných dat vyšly signifikantně významné (Příloha 6). Na grafu (Obr. 30) je vidět, že nejvíc se od všech ostatních podle první osy diferencuje TMAVÁ forma druhu *E. macularius*. Druh *E. angramainyu* je také odlišný od ostatních. Pouze několik jedinců se překrývá s BÍLOU formou druhu *E. macularius*. BÍLÁ a VELKÁ forma se podle první osy kanonické analýzy z velké části mísí, ale podle druhé osy se od sebou trochu vymezují. Sycení jednotlivých os uvádí tabulka v Příloze (Příloha 7).



Obr. 30 Kanonická analýza logaritmicky transformovaných dat. Podle první osy se TMAVÁ forma odlišuje od ostatních. Druh *E. angramainyu* se také diferencuje.

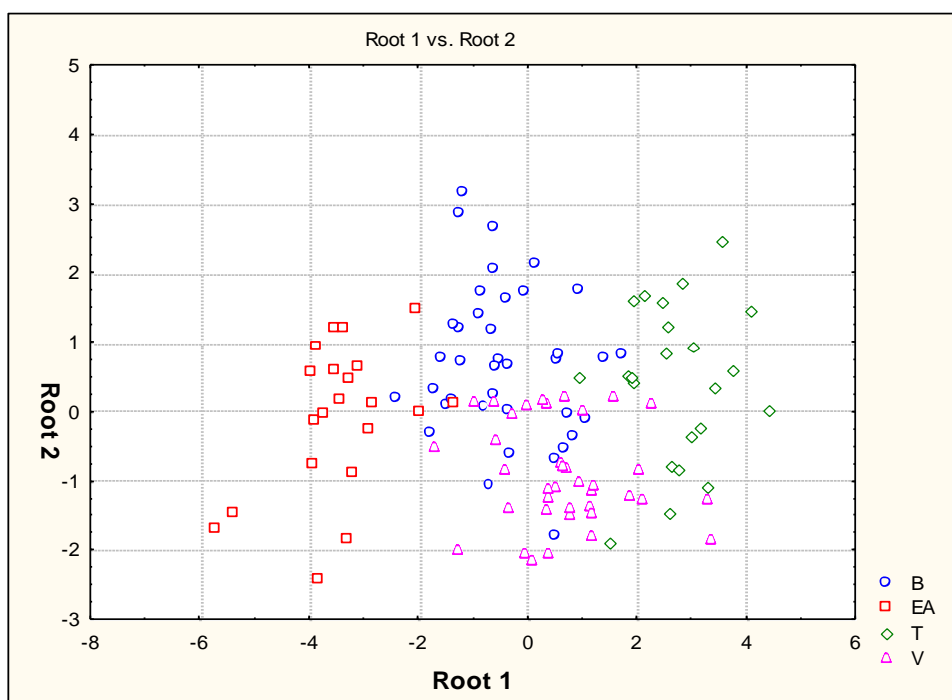
Na základě Mahalanobisových distancí byl pomocí shlukové analýzy metodou UPGMA sestaven fenetický strom (Obr. 31). Překvapivě vyšel v rozporu s fylogenetickými vztahy této skupiny (Starostová 2004). Na základě tohoto fenetického stromu jsou si BÍLÁ a VELKÁ forma nejpodobnější. K nim je sestersky řazen druh *E. angramainyu*. Nejvzdálenější je pak TMAVÁ forma druhu *E. macularius*.



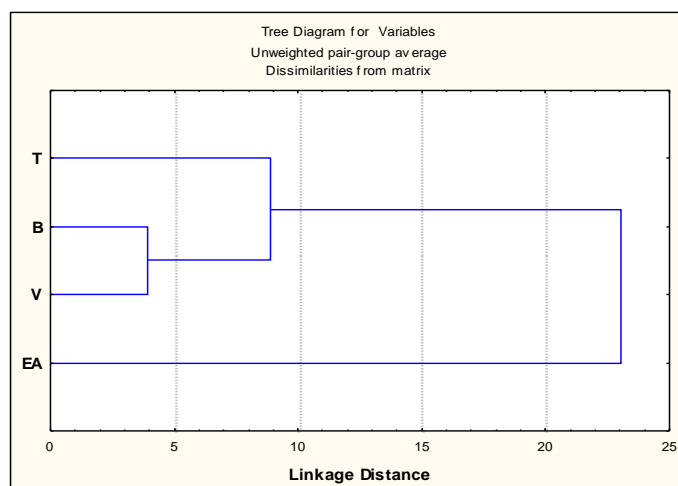
Obr. 31 Fenetický UPGMA strom sestavený na základě Mahalanobisových vzdáleností. Logaritmická transformace dat.

Ačkoliv byl odstraněn efekt velikosti Mosimannovou transformací dat, rozložení jedinců na kanonických osách si udrželo podobný charakter jako výše. Na Obr. 32 jsou TMAVÁ forma a druh *E. angramainyu* podle první osy na protilehlých stranách a BÍLÁ a VELKÁ forma leží mezi nimi. Podle druhé kanonické osy se odlišují částečně i BÍLÁ a VELKÁ forma. Z tabulek v Příloze (Příloha 10, 11) je patrné, že za toto odlišení jsou zodpovědné rozměry na končetinách, přičemž BÍLÁ forma má delší končetiny než forma VELKÁ.

Na základě Mahalanobisových distancí byl pomocí shlukové analýzy metodou UPGMA opět sestaven fenetický strom (Obr. 33). Tentokrát vyšel v souladu s fylogenetickou příbuzností. Na základě tohoto fenetického stromu jsou si BÍLÁ a VELKÁ forma opět nejpodobnější. K nim je sestersky řazena TMAVÁ forma a druh *E. angramainyu* je k nim nejvzdálenější.



Obr. 32 CVA (Mosimannova transformace); podle první osy se TMAVÁ forma a druh *E. angramainyu* se odlišují od shluku BÍLÉ a VELKÉ formy druhu *E. macularius*.



Obr. 33 Fenetický UPGMA strom sestavený na základě Mahalanobisových vzdáleností. Mosimannova transformace dat.

5.4 Diskuze

Na základě odlišností morfologických znaků lze předvídat vzájemnou příbuznost na nižší taxonomické úrovni. Na druhou stranu přírodní selekce může urychlit přizpůsobení některých morfologických znaků jako adaptivní odpověď na vystavení habitatům s odlišnou strukturou (Vitt et al. 1997). Morfologie má vliv na výkon jedince v daném prostředí a míra přizpůsobení tomuto prostředí ovlivní především jeho celkovou fitness, např. v úspěšnosti lokomoce v konkrétním habitatu, úteková schopnost před predátory aj.

Velmi často ovlivňuje struktura prostředí délku končetin. Druhy či populace s dlouhými zadními končetinami bývají dobrými sprintery v otevřeném habitatu a také jsou dobrými skokany v kamenitých biotopech s většími balvany. Na druhou stranu jim dlouhé končetiny mohou být na obtíž v uzavřeném habitatu s hustou vegetací. Jedinci s krátkými končetinami bývají zase dobří lezci po kamenitých stěnách, ale neuplatní se tolik v otevřených habitatech (Herrel et al. 2001, Vitt et al. 1997, Garland & Losos 1994).

Morfologické odlišnosti mezi formami či druhy lze tedy buďto interpretovat jako míru jejich divergence, nebo z nich lze usuzovat na charakteristické prostředí, na které jsou přírodní selekcí adaptováni. Oba druhy *E. macularius* i *E. angramainyu* v zásadě obývají sušší kamenité biotopy s dostatkem úkrytů ve štěrbinách či dírách, jak v

přírodních elementech prostředí, tak v rozpadajících se kamenných staveních (Saufer et al. 2005).

V morfometrické analýze, 11 tělesných rozměrů na těle a končetinách a celkové hmotnosti, se ukázalo, že druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* se liší. *E. angramainyu* se ve všech analýzách, a to i po odfiltrování velikosti, odlišoval od všech forem druhu *E. macularius* a to především svojí velikostí. To by mohlo být výsledkem jeho dřívější divergence. Pouze několik mladších jedinců, kteří nedorostli zcela adultní velikosti, bylo zaměňováno s menší BÍLOU formou druhu *E. macularius*.

V rámci druhu *E. macularius* se nejvíce lišila TMAVÁ forma, která je ze všech nejmenší. VELKÁ a BÍLÁ forma se ukázala být stejně velká, ale BÍLÁ forma měla po odfiltrování velikosti většinou delší zadní končetiny než ostatní. Právě tato skutečnost by mohla být výsledkem přírodní selekce na strukturu habitatu, který obývá.

V areálu rozšíření druhu *E. macularius* se, kromě populací obývajících typický kamenitý biotop s minimem vegetace, vyskytují jedinci žijící v suchých subtropických lesích a křovinách na jihu areálu v blízkosti Arabského moře, kde je ve srovnání se severní oblastí výskytu vlhčí podnebí. Předpokládá se také, že v rámci tohoto druhu existuje více allopatrických distinktních populací, které by se mohly lišit ve struktuře biotopu a svojí ekologií (Saufer et al. 2005).

Hypoteticky by mohly být tyto tři formy, které se liší morfologicky i charakteristickým zbarvením, právě těmi hledanými allopatrickými poddruhy. TMAVÁ forma, která na fenetickém stromě sestaveným shlukovou analýzou z dat bez odfiltrované velikosti, vyšla dokonce ještě méně podobná ostatním formám než samotný druh *E. angramainyu*. Na základě této morfologické odlišnosti a dále na spočítaných molekulárních distancích (Starostová 2004) by se dalo uvažovat, zda se nejedná o samostatný druh, který by byl možná totožný s druhem *E. fuscus* ve smyslu původního popisu podle Börner (1981), ale ne podle redeskripce podle Das (1997) (viz Saufer et al. 2005).

6 Etologie mezidruhové hybridizace

Pro zjištění přítomnosti prezygotických reprodukčně izolačních bariér mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* byl sestaven etogram jejich epigamního chování. Cílem bylo zjistit, zda se druhy liší v přítomnosti a frekvenci jednotlivých prvků tohoto chování. Dále pak bylo analyzováno, s jakou úspěšností se dařilo samci druhu *E. angramainyu* spářit samice druhu *E. macularius*. Pozornost byla věnována tomu, jak moc se samec cizím samicím dvořil a zda byly samice ochotné ke kopulaci s heterospecifickým samcem.

6.1 Materiál a metodika

Pokusy proběhly v období reprodukční sezóny od března do května ve večerních hodinách, kdy začíná jejich aktivita. Do terária o rozměrech 30 x 30 x 20 cm byl k samici přidáván na 30 min samec a vše bylo zaznamenáváno videokamerou. Nejdříve byl na základě pozorování sestaven etogram a dále byly v programu Observer vyhodnocen kontinuální záznam chování zvlášť pro samce a zvlášť pro samice. Sledovány byly počty a trvání jednotlivých prvků chování. Pro páření druhu *E. macularius* bylo použito 14 samců a 20 samic tak, že někteří samci byli použiti dvakrát. Pro druh *E. angramainyu* bylo hodnoceno 9 samců a 9 samic a během hybridizace bylo použito 22 samic druhu *E. macularius* pouze jednou a 2 samci *E. angramainyu*, kteří byli použiti opakovaně. Jednotkou bylo každé páření, protože se jednalo o interakci vždy dvou zvířat, která nebyla použita opakovaně dohromady.

Nejprve byly počty jednotlivých aktivit vizualizovány pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) a poté byla provedena diskriminační funkční analýza DFA (Statistika 6.0), která vyčlenila relevantní prvky epigamního chování. Metodou CVA jsme se snažili najít potenciální rozdíly v epigamním chování mezi rodičovskými druhy (*E. macularius*, *E. angramainyu*) a při hybridizaci *E. macularius* X *E. angramainyu* délky projevů epigamního chování.

Celková úspěšnost páření byla počítána jako procento úspěšného páření ze všech pořízených videonahrávek.

Prvky chování hodnocené u samců	Prvky chování hodnocené u samic
unconcern – nezájem approaching – zájem o partnera, setrvání v jeho blízkosti sniffing – olizování vzduchu (očichávání) licking – olizování partnera following – následování partnera cross over - přezení freezing - ztuhnutí vibration – vibrování ocasu bitting – kousání (dvoření) attempt copulation – pokus o kopulaci copulation – kopulace postcopulation – čištění hemipenisu	unconcern – nezájem approaching – zájem o partnera, setrvání v jeho blízkosti sniffing – olizování vzduchu (očichávání) licking – olizování partnera escape – útěk bite – kousání v sebeobraně tail – vibrování až vlnění ocasu (odmítání partnera) following – následování partnera cross over – přezení freezing – ztuhnutí allow – zdvihnutí ocasu a umožnění kopulace copulation – kopulace postcopulation – čištění kloaky

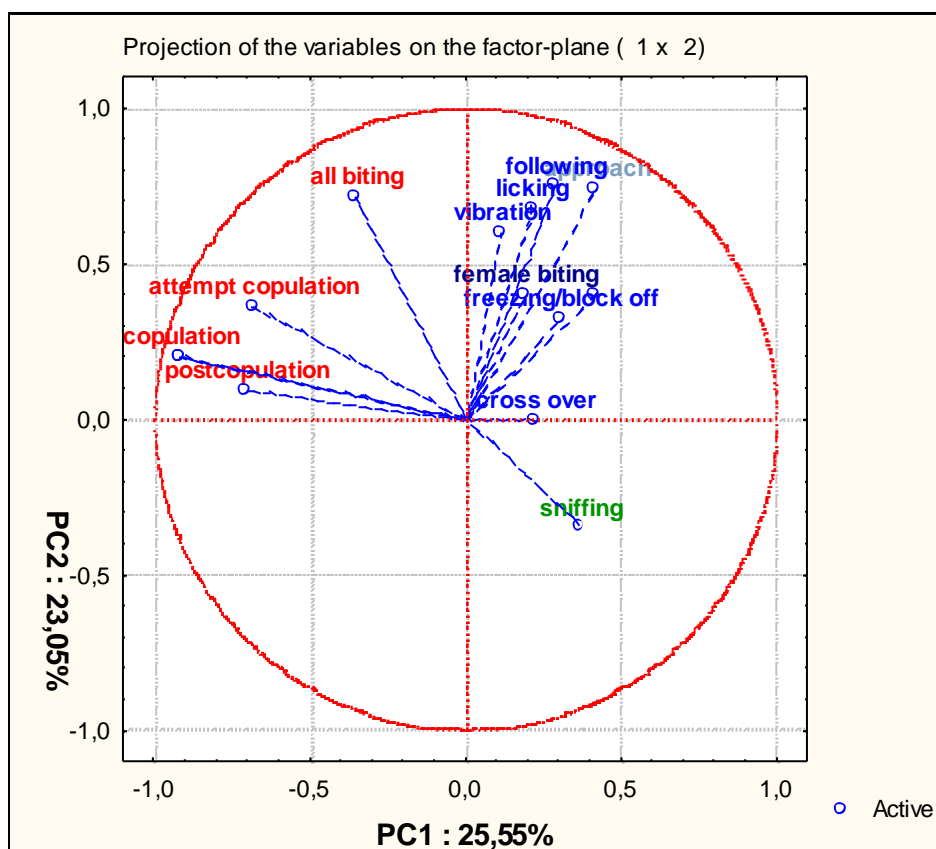
6.2 Výsledky

6.2.1 Analýza chování samců

Jako proměnné byly použity zmíněné prvky chování pro samce. Nejprve byly počty aktivit vizualizovány pomocí PCA (STATISTICA 6.0). První komponenta rozdělila jednotlivé aktivity na ty, které souvisí s dvořením a na aktivity chování přímo související s úspěšnou kopulací (

Obr. 34). Mezi dvoření patřilo především kontaktování samice, olizování, blokování samice, zamrzání a vibrování ocasem jako projev vzrušení. K těmto

projevům patřilo také odmítnutí samici v podobě jejího kousání samce. Chování vedoucí k úspěšné kopulaci zahrnuje samcovo okusování samice, dále to, že samice umožní kopulaci zdvižením svého ocasu a samotnou kopulaci s postkopulačním čištěním hemipenisu. Prvek sniffing – olizování vzduchu (očichávání) je neutrální prvek spadající mezi explorační chování.



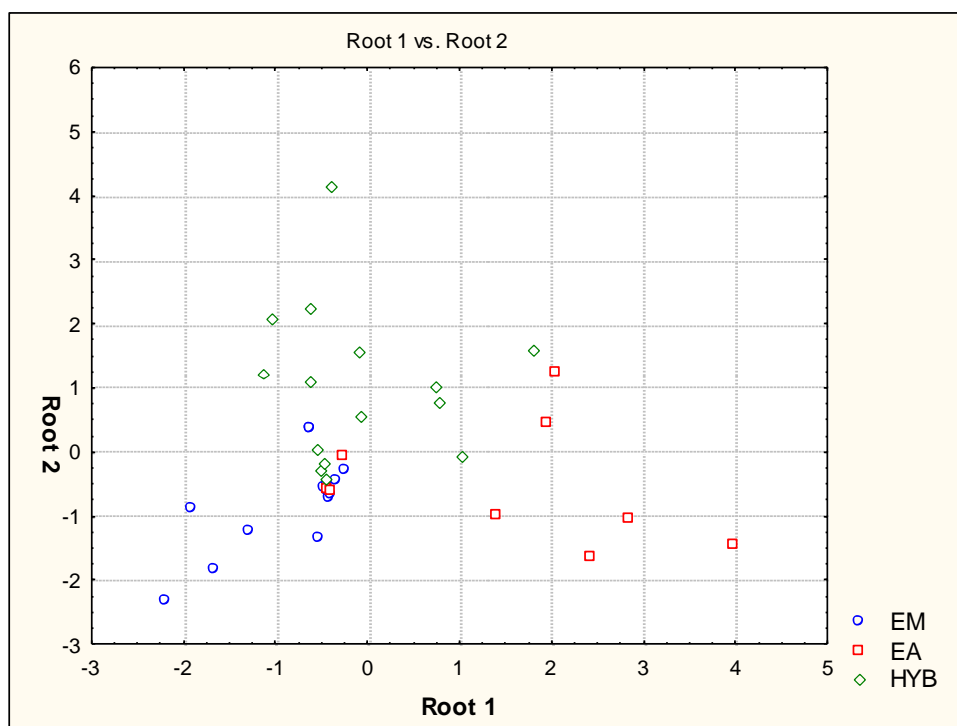
Obr. 34 Projekce proměnných na prvních dvou osách hlavních komponent. První komponenta rozdělila jednotlivé aktivity na ty, které souvisí s dvořením (modře) a na aktivity chování přímo související s úspěšnou kopulací (červeně).

Pro diskriminační funkční analýzu (DFA) byly použity proměnné, které tvořila vždy délka konkrétního chování ku celkové době pokusu. Pro normalizaci dat použita transformace arcsinus. DFA vybrala proměnné, které statisticky významně přispěly k vysvětlení modelu ($F_{(14,58)} = 3,36$; $p < 0,0006$). Byly to: kopulace, nezájem samce o samici, přibližování se k samici, zamrznutí nebo zablokování cesty partnerovi, následování partnera, vibrování ocasem a samičí kousání viz Tab. 11

Tab. 11 Souhrn proměnných vstupujících do DFA a jejich příspěvek k správné klasifikaci v DFA; postupně od shora: kopulace, nezájem, přiblížení k samici, zamrznutí či zablokování cesty, následování partnera, vibrování ocasem a samičí útočné kousání); červeně – signifikantní vliv.

Délky chování	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
Copulation	0,45	0,68	6,86	0,0036	0,40	0,60
Unconcern	0,42	0,73	5,48	0,0096	0,19	0,81
Approaching	0,38	0,80	3,61	0,0398	0,27	0,73
Freezing/Block c	0,45	0,68	6,83	0,0037	0,53	0,47
Following	0,38	0,80	3,63	0,0390	0,66	0,34
Vibration	0,35	0,88	1,96	0,1584	0,59	0,41
Female biting	0,34	0,89	1,71	0,1978	0,69	0,31

V kanonické analýze vyšly obě osy signifikantně významné. Na grafu (Obr. 35) je vidět, že podle první osy je nejvíc vlevo druh *E. macularius*. Tuto osu negativně sytí hlavně úspěšnost kopulace. Zcela vpravo je druh *E. angramainyu*, kde pozitivně s první osou koreluje: následování samice, zamrznutí či blokování samice a také samičí obranné kousání (Tab. 12). Druhou osu pozitivně sytí hlavně vibrování ocasu. Naopak, negativně s touto osou koreluje nezájem o samici, přibližování k samici a kopulace. Chování samců při hybridizaci je rozděleno podle druhé osy variability, a je situováno na v horní části grafu (Obr. 35). Sycení první a druhé osy jednotlivými prvky chování uvádí tabulka (Tab. 12).



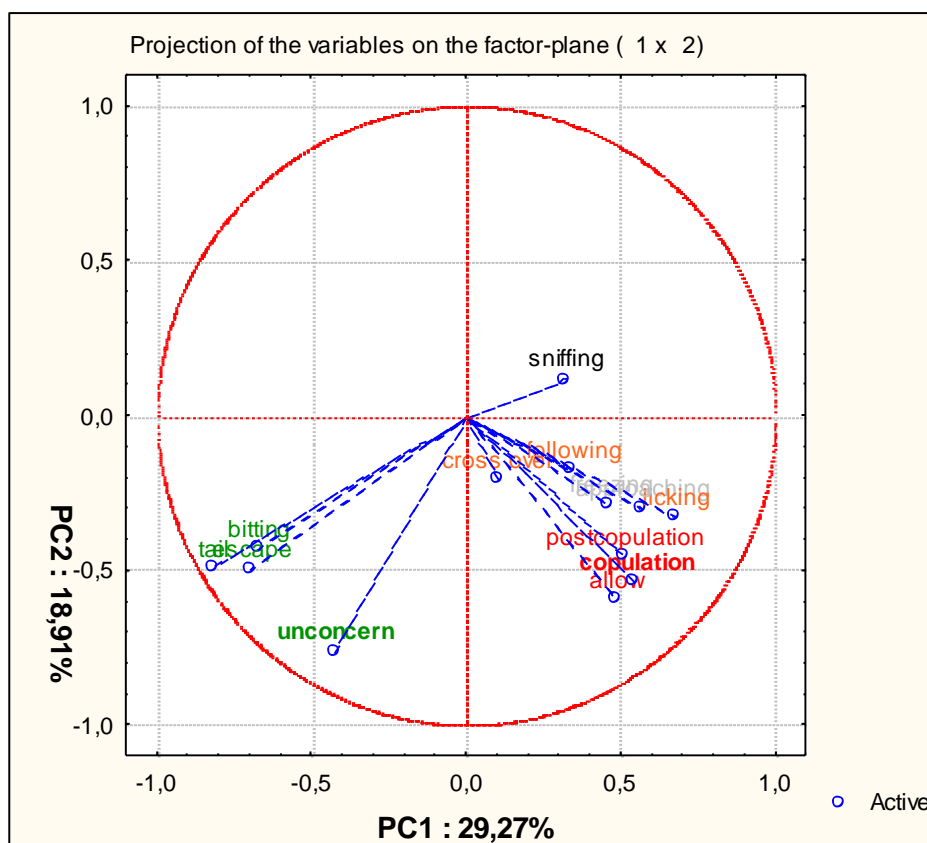
Obr. 35 Kanonická analýza. Podle první osy se druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* odlišují. Samci *E. macularius* se více okamžitě pářili, kdežto samci *E. angramainyu* se sice zájímali o samici, ale samice je kousala. Hybridizace se odlišuje především podle druhé osy, kdy se delší dobu věnovali vibrování ocasu (aktivní dvoření).

Tab. 12 Sycení kanonických os; postupně od shora: kopulace, nezájem, zájem o partnera, zamrznutí či zablokování cesty, následování partnera, vibrování ocasem a samičí útočné kousání; modře – typické pro *E. macularius*, červeně – typické pro *E. angramainyu*, zeleně – typické pro hybridizaci.

	Root 1	Root 2
Copulation	-0,422	-1,298
Unconcern	0,094	-1,847
Approaching	0,033	-1,319
Freezing/Block off	0,821	-0,815
Following	0,763	-0,288
Vibration	-0,275	0,622
Female biting	0,545	-0,193

6.2.2 Analýza chování samic

Nyní byly jako proměnné použity prvky chování samic. V PCA by se dala první osa variability považovat za vyjádření ochoty samice se pářit. Aktivita vyjadřující nezáměr, či strach (nezáměr, útěk, kousání a vlnivý pohyb ocasu) jsou v levé části grafu, zatímco aktivity vedoucí k úspěšnému páření sytí první osu v opačném směru (umožnění samci páření zdvižením ocasu, kopulace, postkopulační čištění kloaky, olizování partnera, zájem o partnera, zamrznutí či blokování partnera). Přelézání, následování samce a olizování vzduchu (očichávání) se jeví z tohoto pohledu jako neutrální aktivity samice (Obr. 36).



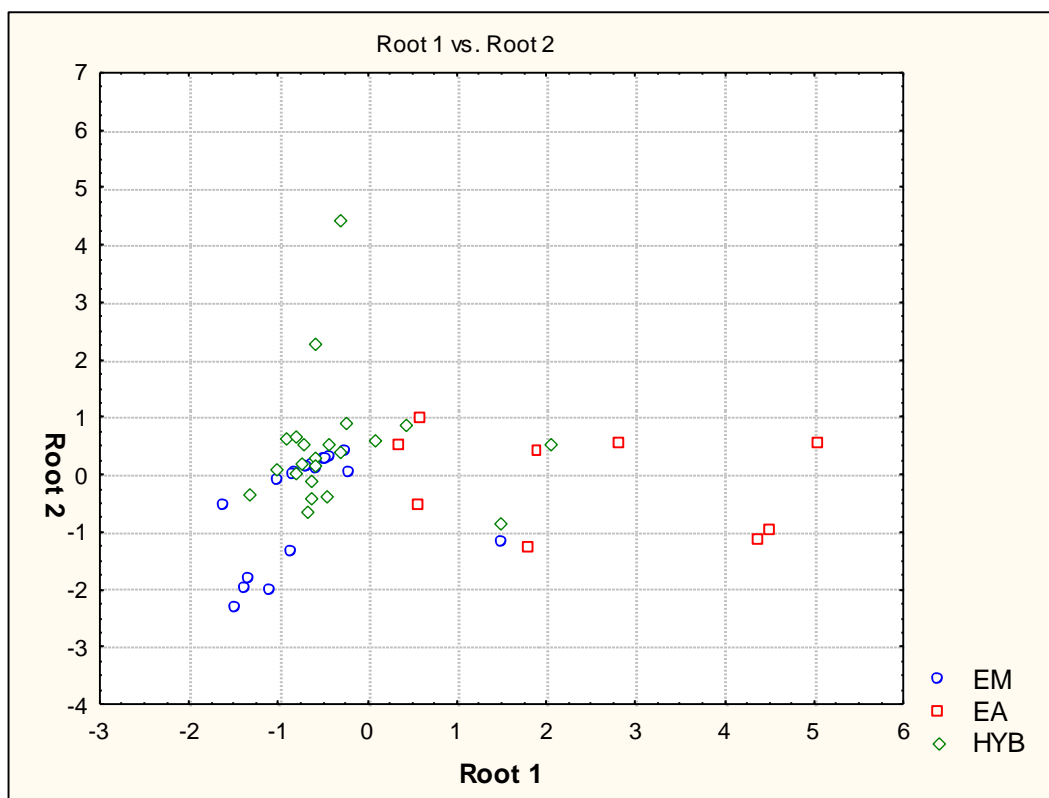
Obr. 36 Projekce proměnných na prvních dvou osách hlavních komponent. První komponenta rozdělila jednotlivé aktivity na ty, které vyjadřují nezáměr či strach (zeleně) a na aktivity spojené s ochotou samice se pářit (červeně).

V diskriminanční analýze nejvíce přispívají k vysvětlení modelu tyto prvky chování: vlnivý pohyb ocasu a kopulace. Útěk a nezájem s nimi korelují a ostatní proměnné nepřispívají k celkovému vysvětlení modelu ($F_{(8,90)} = 7,74$ $p < 0,0001$) viz Tab. 13.

První osu v CVA lze interpretovat jako pasivní souhlas (dovolení kopulace) či nesouhlas samice (nezájem o samce) s pářením versus aktivně vyjadřovaný nesouhlas (vlnivý pohyb ocasu, útěk). Druhou osu lze interpretovat podobně. Na jedné straně je úspěšná kopulace a na druhé útěk (Tab. 14, Obr. 37).

Tab. 13 Souhrn proměnných vstupujících do DFA a jejich příspěvek k správné klasifikaci v DFA; postupně od shora: vlnivý pohyb ocasu, útěk, kopulace a nezájem; tučně a červeně – signifikantní vliv, červeně – na hranici průkaznosti.

Délky chování	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
Tail	0,57	0,61	14,26	<0,0001	0,74	0,26
Escape	0,38	0,92	1,85	0,1692	0,70	0,30
Copulation	0,40	0,88	3,17	0,0517	0,65	0,35
Unconcern	0,38	0,92	1,86	0,1676	0,60	0,40



Obr. 37 Kanonická analýza. Skupiny se odlišily především podle první osy. Samice *E. angramainyu* více vlnily ocasem a utíkaly (odmítání samce). Samice *E. macularius* se chovaly podobně, ať v interakci s vlastním samcem, či během hybridizace s cizím samcem. Tyto samice buď neměly zájem nebo se pářily. Podle druhé osy byla v rámci skupiny podobná variabilita chování.

Tab. 14 Sycení kanonických os; postupně od shora: vlnivý pohyb ocasu, útěk, kopulace a nezájem; modře – typické pro *E. macularius* a také pro hybridizaci, červeně – typické pro *E. angramainyu*.

	Root 1	Root 2
Tail	0,928	-0,180
Escape	0,454	0,567
Copulation	-0,202	-0,588
Unconcern	-0,357	0,027

6.2.3 Celková úspěšnost páření

Tab. 15 Úspěšnost páření, EA – *E. angramainyu*, EM – *E. macularius*.

	Počet záznamů	Počet páření	%
EA x EA	10	0	0
EM x EA	83	5	6,02
EM x EM	49	12	24,49

V celkové procentu páření byli samci druhu *E. angramainyu* méně úspěšní u heterospecifických samic než konspecifičtí samci.

6.3 Diskuze

Epigamní chování je nedílnou součástí reprodukčního chování u mnoha druhů plazů s funkcí informovat o připravenosti k páření i o kvalitě partnera. Preference druhově typických prvků epigamního chování ovlivňuje i mezidruhové rozpoznávání. U některých příbuzných druhů, se liší natolik, že zabraňuje mezidruhovému křížení (Losos 2004).

Při sestavování etogramu pro druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* jsem našla stejné prvky epigamního chování. Věnovali se jim však různě dlouho a s různou intenzitou. To znamená, že tyto dva allopatricky žijící druhy nemají vyvinutou dostatečně silnou prekopulační bariéru.

Samci *E. macularius* se méně dvořili (vibrování ocásku, následování, ztuhnutí) a většinou se rovnou pářili. O úspěšnosti páření rozhodovala ovšem i nálada samice, tj. jestli se nebránila kousáním.

Naproti tomu u druhu *E. angramainyu* samci věnovali dvoření mnohem delší dobu, ale neúspěšně. Samice často signalizovaly neochotu se pářit pohyby ocasem, utíkaly a bránily se kousáním.

Během hybridizace se samec *E. angramainyu* mnohem déle věnoval aktivnímu dvoření (vibrace ocasem), než se s ním samice *E. macularius* spářily. Samice *E. macularius* nakonec dovolovaly páření samci *E. angramainyu*, ale mnohem častěji varovně signalizovaly (vlnivé pohyby ocasem) a pokoušely se utéct.

Úspěšnost páření je velkou měrou dána receptivitou samic. K násilné kopulaci u těchto druhů dochází jen zřídka (Fůzeková 2006). Mezidruhové rozdíly v úspěšnosti u vlastních samic mohou být dány právě rozdílem v receptivitě samic. Vzorek k hodnocení *E. angramainyu* byl poměrně malý a ani jednou se mi nepodařilo zachytit úspěšné páření. Neúspěch páření může být také dán tím, že tento druh je náchylnější na stresové podmínky (Frynta, pers.comun.). Setkání s cizím samcem může být pro samice příliš velký stresový faktor, než aby se s ním spářily za půlhodinové trvání pokusu.

Celkově byl samec *E. angramainyu* při hybridizaci méně úspěšný (6%) než samci *E. macularius* u vlastních samic (24,5%). To by mohlo znamenat, že samice jsou schopny rozeznávat vlastní druh a že do jisté míry preferují konspecifického partnera.

7 Líhnivost, velikost vajec a mlád'at

7.1 Materiál a metodika

V letech 2005 – 2008 byla každou reprodukční sezónu sbírána každý týden vajíčka od všech samic, které se spářily, a byla inkubována viz. Metodika chovu. Pro každé vajíčko byly zaznamenány následující údaje:

- Identita samice, která vejce snesla
- Datum snesení
- Hmotnost vajíčka
- Datum líhnutí (či zápis, že se nevylihlo)
- Hmotnost mláděte
- Pořadí snůšky – kolikátá snůška je to pro konkrétní samici
- Hmotnost matky na začátku sezóny (kondice)

Z těchto údajů byla vypočítaná průměrná líhnivost, hmotnost vajec a mlád'at pro jednotlivé skupiny:

- formy druhu *E. macularius* (VELKÁ, BÍLÁ, TMAVÁ)
- LAB – laboratorní forma jako kontrola
- F1 hybridy mezi formami
- F2 hybridy a hybridy ze zpětného křížení s rodičovskou formou
- druh *E. angramainyu*
- F1 mezidruhové hybridy mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*
- F2 mezidruhové hybridy a hybridy ze zpětného křížení s rodičovskou formou

Tyto údaje byly mezi sebou porovnávány pomocí analýzy variance (ANOVA) či GLM (pro post hoc testy byla použita metoda HSD pro nestejné velikosti vzorků) nebo v případě líhnivosti analogickou GLZ analýzou umožňující počítat s binomickým rozdělením dat (s logit link function).

7.2 Výsledky

V GLZ vyšly rozdíly mezi formami signifikantní v líhnivosti (Wald $X_{2(23)}=127,90$, $p<0,0001$). Skoro u všech skupin vyšla poměrně vysoká úspěšnost líhnutí. Při hybridizaci forem se ukázala snížená líhnivost F1 hybridů u hybridů s TMAVOU formou (T x V, B x T). Jelikož celkový počet vajec F1 hybridů byl malý, může se jednat o artefakt. Líhnivost F2 hybridů a hybridů ze zpětného křížení je totiž srovnatelná s líhnivostí rodičovských forem.

Výrazné snížení líhnivosti se však projevilo při mezidruhové hybridizaci. F1 hybridi mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* se líhli jen ve 45 % případů při inkubační teplotě 28,5°C. A F2 hybridi se prozatím dokonce nevylíhli. Jelikož líhnivost závisí na správné inkubační teplotě, nechávala se F2 hybridní vajíčka v sezóně 2007 inkubovat při teplotě 28,5°C (optimální pro druh *E. macularius*) a v sezóně 2008 při 26°C (optimální inkubační teplota pro druh *E. angramainyu*). Naopak líhnivost hybridů ze zpětného křížení s druhem *E. macularius* byla velmi vysoká. Souhrn líhnivosti pro všechny skupiny je v Tab. 16. Průměrné hmotnosti vajíček a mláďat v každé skupině jsou v tabulkách (Tab. 17 a Tab. 18).

Tab. 16 Počty vajíček a jejich líhnivost; čeveně – nízká líhnivost, tučně a červeně – žádná líhnivost; F1 – první generace (rodiče z přírody), F2 – druhá generace (rodiče z odchovu a u hybridizace jsou to F2 hybridi), B – hybrid ze zpětného křížení.

Forma / typ hybridizace		Generace	Forma mláděte	Líhnivost	N
<i>E. macularius</i>	VELKÁ	F1	VV	72,3%	231
	BÍLÁ	F1	BB	85,9%	71
	TMAVÁ	F2	TT	86,4%	59
	LAB	F1	LL	83,8%	315
Vnitrodruhová hybridizace		F1	V X B	80,0%	5
		F1	B X V	70,0%	10
		F1	V X T	80,0%	10
		F1	T X V	10,0%	10
		F1	B X T	41,2%	17
		F2	VB X VB	90,0%	20
		F2	BV X BV	95,3%	43
		F2	BT X BT	87,5%	16
		F2	VT X VT	64,0%	25
		B	V X (VXT)	93,9%	33
<i>E. angramainyu</i>		F1	AA	66,7%	12
Mezidruhová hybridizace		F1	EM X EA	44,8%	67
		F2	EMEA X EMEA	0,0%	28
		B	EM X (EMXEA)	95,0%	20

Tab. 17 Počty vajíček a jejich průměrná hmotnost, F1 – první generace (rodiče z přírody), F2 – druhá generace (rodiče z odchovu a u hybridizace jsou to F2 hybridi), B – hybrid ze zpětného křížení.

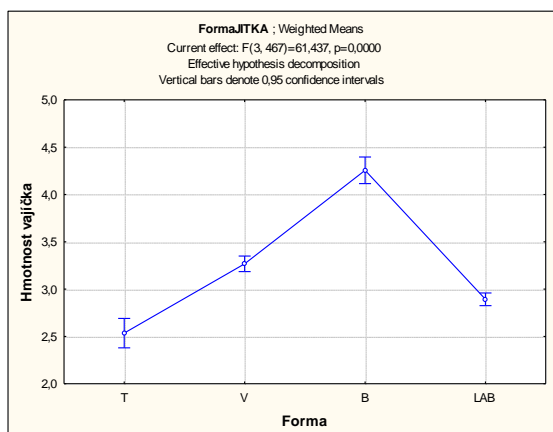
Forma / typ hybridizace		Generace	Forma mláděte	Průměrná hmotnost vajec	SE	N
<i>E. macularius</i>	VELKÁ	F1	VV	3,85	0,04	250
	BÍLÁ	F1	BB	4,41	0,06	83
	TMAVÁ	F2	TT	2,59	0,07	61
	LAB	F1	LL	3,09	0,03	315
Vnitrodruhová hybridizace		F1	V X B	3,34	0,25	5
		F1	B X V	4,27	0,18	10
		F1	V X T	4,02	0,18	10
		F1	T X V	2,46	0,14	16
		F1	B X T	4,05	0,14	17
		F2	VB X VB	3,44	0,13	20
		F2	BV X BV	3,98	0,09	43
		F2	BT X BT	3,59	0,14	16
		F2	VT X VT	3,22	0,11	29
		B	V X (VXT)	3,32	0,10	33
<i>E. angramainyu</i>		F1	AA	7,84	0,15	14
Mezidruhová hybridizace		F1	EM X EA	3,26	0,07	64
		F2	EMEA X EMEA	5,17	0,11	28
		B	EM X (EMXEA)	3,53	0,13	20

Tab. 18 Počty mláďat a jejich průměrná hmotnost po vylíhnutí, F1 – první generace (rodiče z přírody), F2 – druhá generace (rodiče z odchovu a u hybridizace jsou to F2 hybridi), B – hybrid ze zpětného křížení

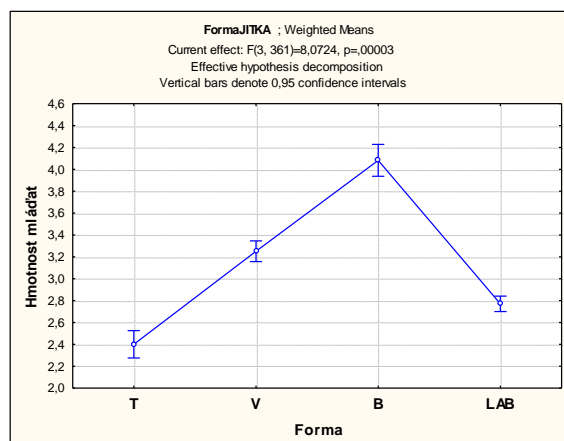
Forma / typ hybridizace		Generace	Forma mláděte	Průměrná hmotnost vajec	SE	N
<i>E. macularius</i>	VELKÁ	F1	VV	3,56	0,05	163
	BÍLÁ	F1	BB	4,21	0,07	71
	TMAVÁ	F2	TT	2,35	0,06	51
	LAB	F1	LL	3,00	0,04	258
Vnitrodruhová hybridizace		F1	V X B	2,55	0,38	4
		F1	B X V	4,18	0,08	7
		F1	V X T	3,91	0,14	8
		F1	T X V	1,89		1
		F1	B X T	4,06	0,11	7
		F2	VB X VB	3,16	0,09	18
		F2	BV X BV	3,86	0,09	41
		F2	BT X BT	3,29	0,12	14
		F2	VT X VT	2,98	0,11	16
		B	V X (VXT)	3,26	0,07	31
<i>E. angramainyu</i>		F1	AA	7,78	0,57	8
Mezidruhová hybridizace		F1	EM X EA	3,26	0,15	27
		F2	EMEA X EMEA			0
		B	EM X (EMXEA)	3,53	0,10	19

7.2.1 Hybridizace mezi formami druhu *E. macularius*

Jednotlivé formy se mezi sebou průkazně liší ve velikosti vajíček i mlád'at. Je vidět, že TMAVÁ forma snáší nejmenší vajíčka, VELKÁ o něco větší a největší vajíčka má forma BÍLÁ. Kontrolní LABORATORNÍ snáší o něco menší vajíčka než VELKÁ forma. Podobně to vypadá i pro hmotnosti mlád'ata (Obr. 38 a Obr. 39).



Obr. 38 Závislost hmotnosti vajíček na formě ANOVA $F_{(5, 465)}=61.44; p<0.0001$



Obr. 39 Závislost hmotnosti mlád'at na formě ANOVA $F_{(5, 359)}=8.07; p<0.0001$

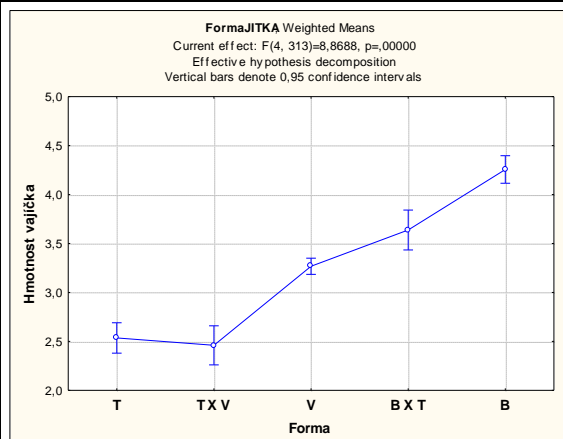
7.2.1.1 Srovnání F1 hybridů s rodičovskými formami druhu

E. macularius

Pro analýzu velikosti vajec u forem a jejich F1 hybridů byl vytvořen GLM model, kde kategoriální vysvětlující proměnnou byla FORMA, kontinuálním prediktorem byla hmotnost samice. Počítána byla i interakce obou faktorů. Při analýze hmotnosti mlád'at byla hmotnost vajíčka dalším kontinuálním prediktorem (interakce počítána nebyla). Všechny testované faktory, jak pro velikost vajec (GLM $F_{(9, 313)}=51.71, p<0.0001$), tak pro velikost mlád'at (GLM $F_{(6, 238)}=286.48, p<0.0001$), přispěly k vysvětlení celkového modelu a byly průkazné viz. (Tab. 19, Tab. 20). Ve velikosti vajec i mlád'at se F1 hybridy podobají jedné z rodičovských forem (TxV se podobají T) nebo mají intermediární charakter (BxT) viz Obr. 40 a Obr. 41, což potvrdil i post hoc test (např. Tab. 21).

Tab. 19 GLM, hmotnost vajíček, průkaznost jednotlivých faktorů u forem a F1 hybridů

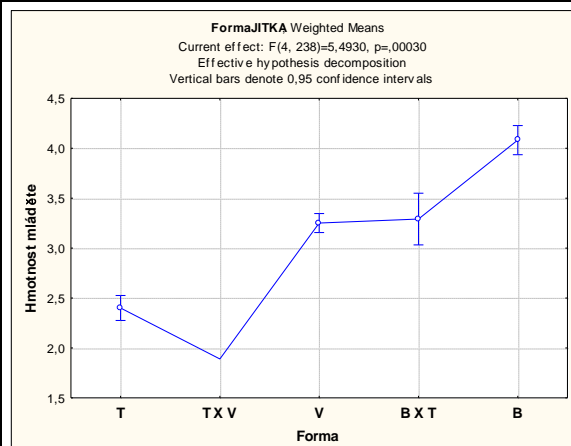
	SS	Stupně	MS	F	p
Intercept	2,14	1	2,14	6,97	0,0087
Forma	10,90	4	2,72	8,87	<0,0001
Hmotnost matky	2,60	1	2,60	8,46	0,0039
Forma*Hmotnost matky	4,15	4	1,04	3,38	0,0100
Error	96,14	313	0,31		



Obr. 40 Hmotnost vajíček u jednotlivých forem a jejich F1 hybridů, vážené průměry

Tab. 20 GLM, hmotnost mláďat, průkaznost jednotlivých faktorů u forem a F1 hybridů

	SS	Stupně	MS	F	p
Intercept	0,46	1	0,46	5,73	0,0175
Hmotnost vajíčka	44,65	1	44,65	556,81	<0,0001
Hmotnost matky	0,82	1	0,82	10,21	0,0016
Forma	1,76	4	0,44	5,49	0,0003
Error	19,09	238	0,08		



Obr. 41 Hmotnost mláďat u jednotlivých forem a jejich F1 hybridů, vážené průměry

Tab. 21 Post hoc test pro nestejně velikosti vzorků pro hmotnost mláďat; rozlišuje TMAVOU, VELKOU a BÍLOU (červeně); F1 hybridů se podobají jedné z rodičovských forem nebo mají intermediální charakter.

Forma	Hmotnost mláďat	1	2	3
TXV	1,89	****		
T	2,40	****		
V	3,25		****	
BXT	3,29		****	
B	4,08			****

7.2.1.2 Srovnání F2 hybridů s čistými formami druhu *E. macularius*

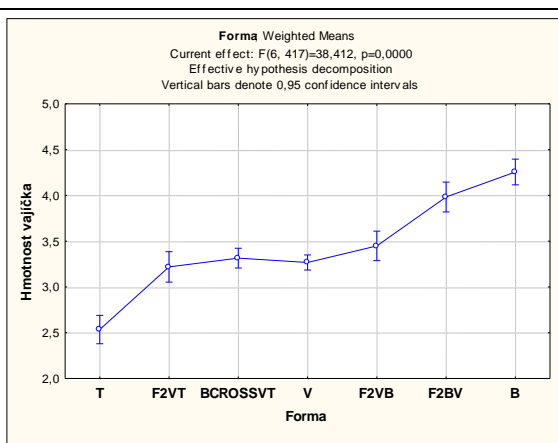
Pro analýzu velikosti vajec u forem a F2 hybridů byl podobně jako výše vytvořen GLM model, kde kategoriální vysvětlující proměnnou byla FORMA, kontinuálním prediktorem byla hmotnost samice. Počítána byla i interakce obou faktorů. Při analýze hmotnosti mláďat byla opět hmotnost vajíčka s hmotností samice kontinuálními prediktory a FORMA byla faktorem kategoriálním. Pro velikost vajec (GLM $F_{(13,411)}=39,49$; $p<0,0001$) vyšly signifikantní faktor FORMY a interakce mezi FORMOU a hmotností samice. Pro velikost mláďat (GLM $F_{(8, 339)}=251,04$; $p<0,0001$) signifikantně přispěly k vysvětlení celkového modelu všechny testované faktory a to především hmotnost vajíčka a poté až hmotnost matky a faktor FORMY viz. (Tab. 22 a Tab. 23). Ve velikosti vajec i mláďat se F2 hybridi obdobně jako F1 hybridi podobají jedné z čistých forem nebo mají intermediální charakter viz. Obr. 42 a Obr. 43, což potvrdil i post hoc test (např. Tab. 24).

Tab. 22 GLM, hmotnost vajíček, průkaznost jednotlivých faktorů u forem a F2 hybridů

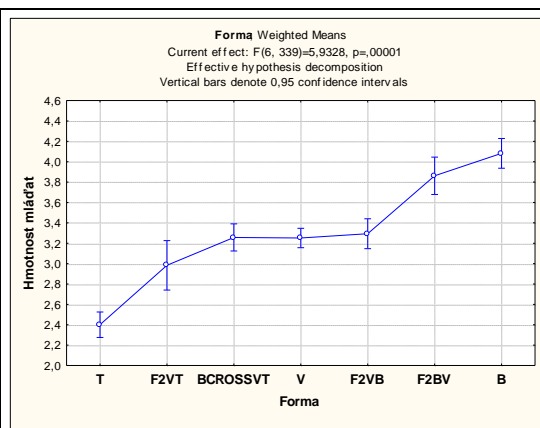
	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	36,77	1	36,77	133,13	<0,0001
Forma	12,37	6	2,06	7,46	<0,0001
Hmotnost matky	0,49	1	0,49	1,77	0,1845
Forma*Hmotnost matky	7,62	6	1,27	4,60	0,0002
Error	113,53	411	0,28		

Tab. 23 GLM, hmotnost mláďat, průkaznost jednotlivých faktorů u forem a F2 hybridů

	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	0,80	1	0,80	9,91	0,0018
Hmotnost vajíčka	59,05	1	59,05	731,88	<0,0001
Hmotnost matky	0,78	1	0,78	9,73	0,0020
Forma	2,87	6	0,48	5,93	<0,0001
Error	27,35	339	0,08		



Obr. 42 Hmotnost vajíček u jednotlivých forem a jejich F2 hybridů a u backcross mezi V a T formou, vážené průměry; T – TMAVÁ, F2VT – F2 hybrid mezi VxT, BCROSSVT – backcross F1 hybridu VxT s VELKOU, V – VELKÁ, F2VB – F2 hybrid mezi VxB, F2BV – F2 hybrid mezi BxV, B – BÍLÁ



Obr. 43 Hmotnost mlád'at u jednotlivých forem a jejich F2 hybridů a u backcross mezi V a T formou, vážené průměry; T – TMAVÁ, F2VT – F2 hybrid mezi VxT, BCROSSVT – backcross F1 hybridu VxT s VELKOU, V – VELKÁ, F2VB – F2 hybrid mezi VxB, F2BV – F2 hybrid mezi BxV, B – BÍLÁ

Tab. 24 Post hoc test pro nestejně velikosti vzorků pro hmotnost mlád'at; rozlišuje TMAVOU, VELKOU a BÍLOU (červeně); F2 hybridy se podobají jedné z rodičovských forem nebo mají intermediální charakter.

Forma	Hmotnost mlád'at	1	2	3	4	5
T	2,40	****				
F2VT	2,98		****			
V	3,25		****	****		
BCROSSVT	3,26		****	****		
F2VB	3,29			****		
F2BV	3,86				****	
B	4,08					****

7.2.2 Mezidruhov^á hybridizace

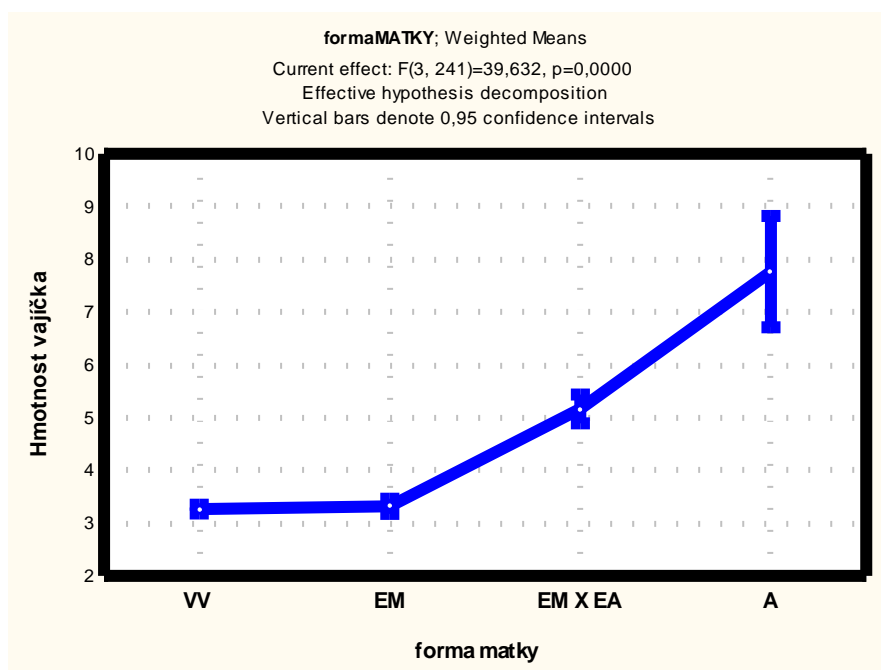
V GLZ vyšly rozdíly v hmotnosti vajíček mezi skupinami průkazně ($F(3, 241)=39,63, p<0,0001$). Hmotnost vajíčka při tom závisí na především na formě samice a na její kondici (hmotnosti na začátku sezóny). Pořadí snůšky v sezóně nebylo průkazné viz. (Tab. 25).

Na grafu (Obr. 44) je vidět, že největší vajíčka snáší druh *E. angramainyu*. Hybridní samice mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* snáší vajíčka

intermediální velikosti v porovnání s rodičovskými druhy. Samice druhu *E. macularius* spárené se samcem druhu *E. angramainyu* snáší stejně velká vejce jako je normální velikost vajec druhu *E. macularius*.

Tab. 25 Hmotnost vajíčka GLZ, efekt jednotlivých faktorů.

	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	29,83	1	29,83	77,17	<0,0001
Hmotnost matky	2,75	1	2,75	7,11	0,0082
Pořadí snůšky	0,42	1	0,42	1,09	0,2978
forma matky	45,96	3	15,32	39,63	<0,0001
Error	93,17	241	0,39		



Obr. 44 Závislost hmotnosti vajíčka na formě matky, $F_{(3, 241)}=39,63, p<0,0001$; VV – *E. macularius* -první generace od jedinců z přírody, EM – samice *E. macularius* spárená s druhem *E. angramainyu* nebo s F1 hybridním samcem, EM X EA – F1 hybridní samice mezi druhy spárená s F1 hybridním samcem, A – *E. angramainyu*.

GLM model vysvětlující vliv faktorů viz Tab. 26 na hmotnost mláděte byl celkově průkazný ($F_{(10, 143)} = 204,91; p<0,0001$). Hmotnost mláděte nevyšla v této analýze signifikantně závislá na formě, pokud byla korigována o hmotnost vajíčka, hmotnost matky a pořadí snůšky. Hmotnost mláděte závisí pouze na hmotnosti vajíčka (Tab. 26).

Tab. 26 Hmotnost mláděte GLM, vliv jednotlivých faktorů, červeně – signifikantní faktor

	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	0,02	1	0,02	0,27	0,6051
Forma mláděte	0,05	3	0,02	0,30	0,8237
Pořadí snůšky	0,52	5	0,10	1,72	0,1346
Hmotnost vajíčka	36,22	1	36,22	601,45	<0,0001
Hmotnost matky	0,01	1	0,01	0,14	0,7126
Error	8,61	143	0,06		

Z tabulky (Tab. 27) je patrné, že mláďata druhu *E. angramainyu* se líhnou větší než u druhu *E. macularius* a hybridi F1 a backcross se líhnou stejně velcí jako u druhu *E. macularius*.

Tab. 27 Průměrné hmotnosti mláďat u jednotlivých forem, VVV – *E. macularius* - druhá generace od jedinců z přírody, EM X EA – hybrid mezi druhy, EM X (EMXEA) – hybrid ze zpětného křížení s druhem *E. macularius*, A – *E. angramainyu*.

Forma mláděte	Průměrná hmotnost mláděte	SE	N
VVV	3,25	0,05	104
EM X EA	3,26	0,15	27
EM X (EMXEA)	3,53	0,10	19
A	7,87	0,62	4

7.3 Diskuze

Celková líhnivost byla pro oba druhy hodně vysoká (*E. macularius* <72-86 %>, *E. angramainyu* 67 %), což podstatné snížení líhnivosti není artefakt zaviněný metodickou chybou. U druhu *E. macularius* se ukázalo, že teplota 28,5°C, kterou si samice sami volili v experimentu (Bragg et al. 2000), produkuje obě pohlaví (více samic) a lze ji považovat za optimální pro tento druh. Pro embrya druhu *E. angramainyu* byla však tato teplota letální. Při 26°C se vylíhla všechna mláďata. Není však jasné jaké je teplotní optimum a jaký poměr pohlaví při této teplotě vzniká.

Uvnitř druhu *E. macularius* se líhli F1 a F2 hybridi forem kromě kříženců s TMAVOU formou (T x V a B x T) líhli s vysokou úspěšností <64-95 %>. Možné

komplikace během hybridizace s TMAVOU formou je potřeba ověřit zvýšením počtu záznamů. Na druhou stranu TMAVÉ samice ani samci, kteří byli použiti pro hybridizaci nebyli sterilní, protože se s jedinci vlastní formy množily normálně.

Mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* jsou vytvořeny částečné postzygotické bariéry. Snížená líhnivost F1 hybridů může být dána: 1) částečnou gametickou nekompatibilitou, 2) mortalitou zygot či embryí v důsledku genové nekompatibility nebo jinými nároky na inkubační teplotu. Absence líhnivosti F2 hybridů může být dána také 1) gametickou nekompatibilitou, 2) mortalitou zygot či embryí, ale také 3) sterilitou F1 hybridů. Z úspěšné líhnivosti „backcrossů“, tj. z křížení samice druhu *E. macularius* se samcem hybrida mezi *E. macularius* a *E. angramainyu* se dá usuzovat, že samci F1 hybridů nejsou sterilní. Podobné ověření je však potřebné provést i pro hybridní samice. Jelikož jsme vejce F2 hybridů inkubovaly jak v teplotě 28,5°C, tak 26°C, nezdá se, že by teplota byla hlavní příčinou nulové líhnivosti, pokud ovšem teplotní optimum pro F2 hybridy neleží mimo rozsah vhodný pro inkubaci obou rodičovských druhů. Vliv inkubační teploty na líhnivost F2 hybridů prozatím nebyl prokázán, ale zároveň se nedá vyloučit.

Jednotlivé formy druhu *E. macularius* a druh *E. angramainyu* se především liší v tělesné velikosti. Nejmenší je TMAVÁ forma, pak je VELKÁ a BÍLÁ a největší je druh *E. angramainyu*. Velikost zvířete při tom predikuje velikosti vajec, či snůšky, kterou může naklást. Gekončici mají invariantní dvouvaječnou snůšku a s velikostí těla roste i velikost vajec (Kratochvíl & Frynta 2006). Investice do jedné snůšky je pro samici relativně velká a tvoří až 20 % její hmotnosti. Naše výsledky opravdu ukázaly, že hmotnost vajec záleží na velikosti (formě) i na kondici samice. Nejmenší vajíčka snáší samice TMAVÉ formy, větší vajíčka má VELKÁ forma, pak BÍLÁ a největší produkuje druh *E. angramainyu*. Samice menší formy během hybridizace se samci z větší formy nesly nikdy prokazatelně větší vejce, než pro ně bylo obvyklé, zatímco samice z větší formy při hybridizaci se samci z menší formy snášely v průměru vejce o něco menší, než bylo pro ně obvyklé. Důvody mohou být následující: 1) Menší samice nedokáže vytvořit větší vejce

Hmotnost mláďat nejvíce predikuje hmotnost vajíčka. Toto zjištění není až tak překvapivé, pokud srovnáváme pouze formy a druhy mezi sebou. Tento fakt ale naznačuje, že během hybridizace nedochází ve většině případů k nekompatibilitě genů

či jiným vnitřním problémům, tj. investice samice do vajíčka se projeví na velikosti mláďate bez ohledu na to, jestli se samice spářila s vlastním nebo cizím samcem.

Hybridní F1 samice snášejí vejce intermediární velikosti vajec rodičovských linií. To platí při hybridizaci jak mezi formami, tak mezi druhy. Nejmarkantnější zvětšení vajec je u velikosti vajec snesených F1 hybridní samicí mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu*, protože se tyto dva druhy také nejvíce liší, jak ve velikosti těla, tak ve velikosti snášených vajec.

8 Hmotnostní růstové křivky

8.1 Materiál

Pro zhotovení hmotnostních růstových křivek byla použita mláďata vylíhlá v roce 2007. Byly použity čisté formy druhu *E. macularius* (VELKÁ, BÍLÁ a TMAVÁ). Jako kontrola byla použita mláďata od zvířat po generace chovaných v zajetí s nejistým původem (LAB). Z hybridů byly analyzováni F2 hybridi forem (potomci z křížení F1 hybridů). Z mezidruhových hybridů mezi *E. macularius* a *E. angramainyu* se použili F1 hybridi (EMxEA) a potomci zpětného křížení těchto hybridů s VELKOU formou (Tab. 28).

Pro tuto analýzu jsme sloučili některé typy hybridů, protože nás zajímal vliv hybridizace na třech úrovních: 1) vnitrodruhová mezi geneticky nejpříbuznějšími formami VELKOU a BÍLOU (F2MM), 2) vnitrodruhová, ale mezi více vzdálenými liniemi, tj. mezi TMAVOU a BÍLOU nebo VELKOU formou (F2MT), a 3) mezidruhová hybridizace mezi *E. macularius* (VELKOU formou) a *E. angramainyu* (EMxEA). Mezidruhová hybridizace byla zkoumána podrobněji, proto byli do analýzy zahrnuti i hybridi ze zpětného křížení mezidruhového hybridu s *E. macularius* (Vx(EMxEA)).

Tab. 28 Zastoupení samců a samic jednotlivých forem *E. macularius* a jejich F2 hybridů a dále F1 hybridů mezi *E. macularius* a *E. angramainyu* a jejich hybridů ze zpětného křížení s VELKOU; na prvním místě kombinace vždy stojí samice; V-VELKÁ, B-BÍLÁ, T-TMAVÁ, LAB-laboratorní, EM - *E. macularius*, EA – *E. angramainyu*, F2MM – F2 hybridi mezi BÍLOU a VELKOU, F2MT – F2 hybridi s TMAVOU formou

Skupiny	Forma	Samec	Samice	Celkový počet
V	V	2	34	36
B	B	1	29	30
T	T	7	22	29
LAB	LAB	10	23	33
F2MM	F2-VxB	1	5	6
	F2-BxV	1	9	10
F2MT	F2-VxT	0	13	13
	F2-BxT	1	8	9
EMxEA	EMxEA	1	25	26
Vx(EMxEA)	Vx(EMxEA)	0	10	10
Celkem		24	178	202

8.2 Metodika

8.2.1 Chov

Každé mládě bylo ubytováno samostatně do krabíčky 15 x 15 x 10. Každý týden byli krmeni ad libitum a k dispozici měli vodu s vitamíny nebo kalcium (viz. kapitola Metodika chovu). První měsíc byli krmeni pouze cvrčky vhodné velikosti. Později jim byla přidávána do krabíčky miska s červy (larvy potemníka moučného), zasypaná Roboranem H. Dávka cvrčků byla zachována. Mláďata byla pravidelně vážena před krmením s přesností na 0,01g po dobu 10-15 měsíců. Prvních pět měsíců byla vážena každý týden. Později byl interval prodloužen na 14 dní a poté na 1 měsíc.

8.2.2 Statistika

V programu STATISTICA 6.0 byla pro každého jedince spočítána růstová křivka (Obr. 45). Byl použit nelineární model Nonlinear Estimation a vloženou funkcí byla logistická křivka (Slábová & Frynta 2007):

$$\text{hmotnost} = a / (1 + \text{Euler}^{(((-1) * K) * (\text{stáří} - T))}), \text{ kde}$$

hmotnost – reálná hmotnost (g)

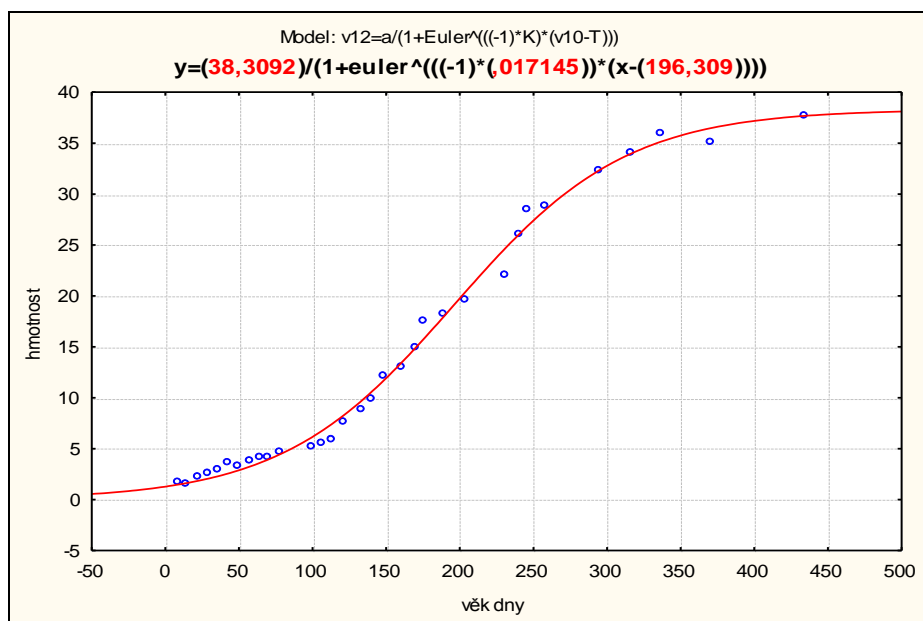
a – asymptotická hmotnost (g)

Euler – Eulerova konstanta

K – růstová rychlost (přírůstek v g)

stáří – věk při vážení (dny)

T – inflexní bod (dny)



Obr. 45 Ukázka hmotnostní růstové křivky, $a = 38,309$ g, $K = 0,171$ g/den, $T = 196,3$ dní

Výsledkem u každého jedince byly parametry růstové křivky a , K , T . Asymptotická hmotnost odhaduje maximální hmotnost, které se daný jedinec bude během života blížit. To je dáno tím, že plazi mají neukončený růst. Růstová rychlost udává, kolik gramů daný jedinec přibere za 1 den v době, kdy dosáhne inflexního bodu. A inflexní bod je stáří jedince ve dnech, jehož křivka se z konkávní mění na konvexní. Inflexní bod tedy predikuje rychlost, s jakou dosáhne jedinec velikosti adultního zvířete a kdy zpomalí („ukončí“) svůj růst.

Jednotlivé parametry hmotnostní růstové křivky byly porovnávány použitím analýzy variance (ANOVA). Jako post hoc testy byla použita metoda HSD pro nestejně velké vzorky. Nejprve jsme zkoumali rozdílnost jednotlivých parametrů růstové křivky mezi čistými formami a laboratorní formou (kontrola) druhu *E. macularius*. Poté jsme totéž provedli i s hybridy.

8.3 Výsledky

Pro každé zvíře byla vypočítána růstová křivka. Z další analýzy jsme vyloučili 5 jedinců, jejichž růstová dynamika neodpovídala logistické růstové křivce. Celkový počet jedinců se tak snížil na 197.

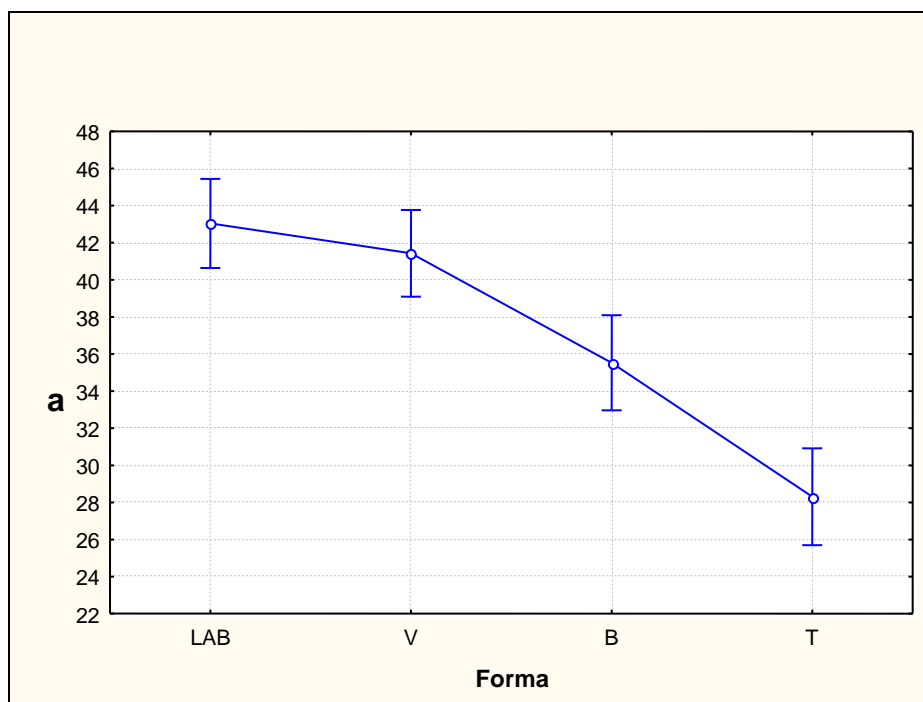
8.3.1 Formy druhu *E. macularius*

Všechny formy (V, B, T a LAB) se signifikantně liší v parametrech hmotnostní růstové křivky (Tab. 29, Tab. 31, Tab. 33).

Tab. 29 Výsledek analýzy variance (ANOVA) pro asymptotickou hmotnost **a**

	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	170397,9	1	170397,9	3499,46	<0,0001
Forma	4030,6	3	1343,5	27,59	<0,0001
Chyba	5891,8	121	48,7		

Rozdíl v asymptotické hmotnosti je velmi dobře vidět i na grafu (Obr. 32). Nejmenší hmotnosti dorůstá TMAVÁ forma, pak je BÍLÁ a největší je VELKÁ a LAB. Mezi VELKOU a LAB formou je rozdíl zanedbatelný, jak ukazuje výsledek post hoc testu. Ten je rozlišuje na 3 homogenní skupiny – T – B – V a LAB (Tab. 30).



Obr. 46 Závislost asymptotické hmotnosti na formě u druhu *E. macularius*, ANOVA, LS means, $F_{(3, 121)}=27,59$, $p<0,0001$; LAB – laboratorní, V – VELKÁ, B – BÍLÁ, T – TMAVÁ.

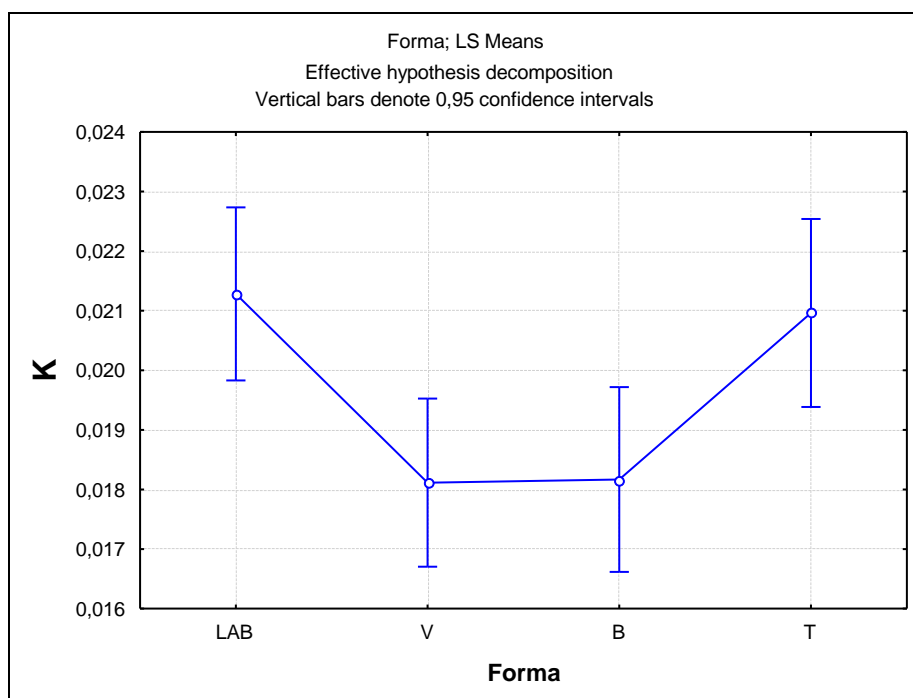
Tab. 30 Post hoc test pro asymptotickou hmotnost rozlišuje 3 skupiny, TMAVÁ – BÍLÁ – VELKÁ a LABORATORNÍ.

Forma	a	1	2	3
T	28,31	****		
B	35,53		****	
V	41,43			****
LAB	43,04			****

Tab. 31 Výsledek analýzy variance pro růstovou rychlost K

	SS	Stupně volnosti	MS	F	p
Intercept	0,0478	1	0,04778	2686,69	<0,0001
Forma	0,0003	3	0,00009	5,29	0,0018
Chyba	0,0022	121	0,00002		

Růstová rychlost se signifikantně liší mezi formami (Tab. 31), jak je zřetelné na grafu. VELKÁ a BÍLÁ rostou pomaleji než forma laboratorní (LAB) a TMAVÁ (Obr. 47). Post hoc test je řadí také do dvou skupin, rychleji i pomaleji rostoucí (Tab. 32).



Obr. 47 Závislost růstové rychlosti K na formě, $F_{(3, 121)}=5,29$, $p=,00184$; LAB – laboratorní, V – VELKÁ, B – BÍLÁ, T – TMAVÁ.

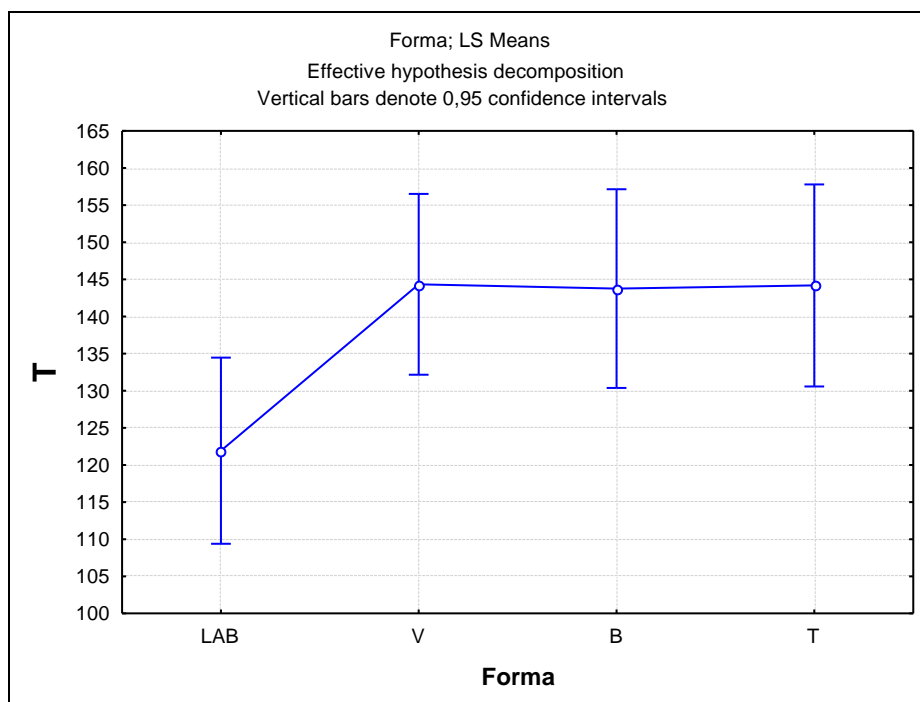
Tab. 32 Unequal Post Hoc test rozlišuje formy na základě růstové rychlosti na 2 skupiny: V a B – LAB; T je v obou skupinách

Forma	K	1	2
V	0,0181	****	
B	0,0182	****	
T	0,0210	****	****
LAB	0,0213		****

Tab. 33 Výsledek analýzy variance pro inflexní bod T

	SS	Stupně volnost	MS	F	p
Intercept	2379672	1	2379672	1796,7	<0,0001
Forma	11956	3	3985	3,0	0,0329
Error	160257	121	1324		

Inflexní bod se také signifikantně liší mezi skupinami (Tab. 33), i když s o něco menší spolehlivostí než předchozí dva parametry (Tab. 29, Tab. 31). Na grafu (Obr. 48) je sice vidět, že laboratorní forma (LAB) se liší od ostatních, ale post hoc test mezi nimi výrazný rozdíl nedělá (Tab. 34) a řadí je do jedné homogenní skupiny. Všechny formy druhu *E. macularius* porostou přibližně stejnou dobu, protože rozdíl mezi jejich inflexním bodem není signifikantně prokazatelný.



Obr. 48 Závislost inflexního bodu T na formě, $F_{(3, 121)}=3,01$, $p=0,0329$; LAB–laboratorní, V – VELKÁ, B – BÍLÁ, T – TMAVÁ.

Tab. 34 Post hoc test pro inflexní bod všechny formy hodnotí jako jednu homogenní skupinu

Forma	τ	1
LAB	121,9	****
B	143,8	****
T	144,2	****
V	144,3	****

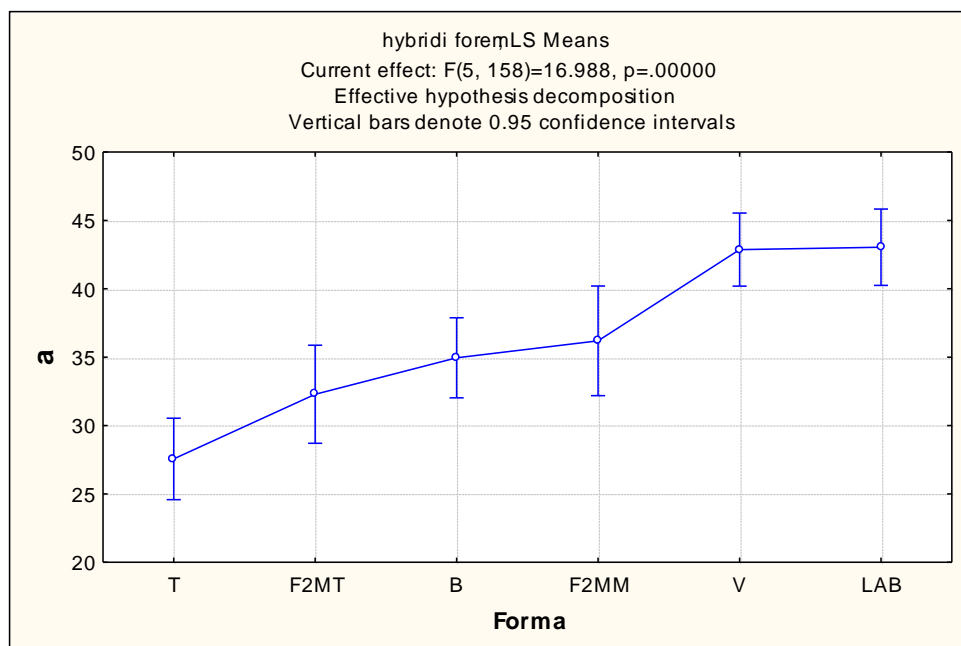
8.3.2 Srovnání hybridů s rodičovskými liniemi v růstových parametrech

8.3.2.1 Vnitrodruhová hybridizace forem druhu *E. macularius*

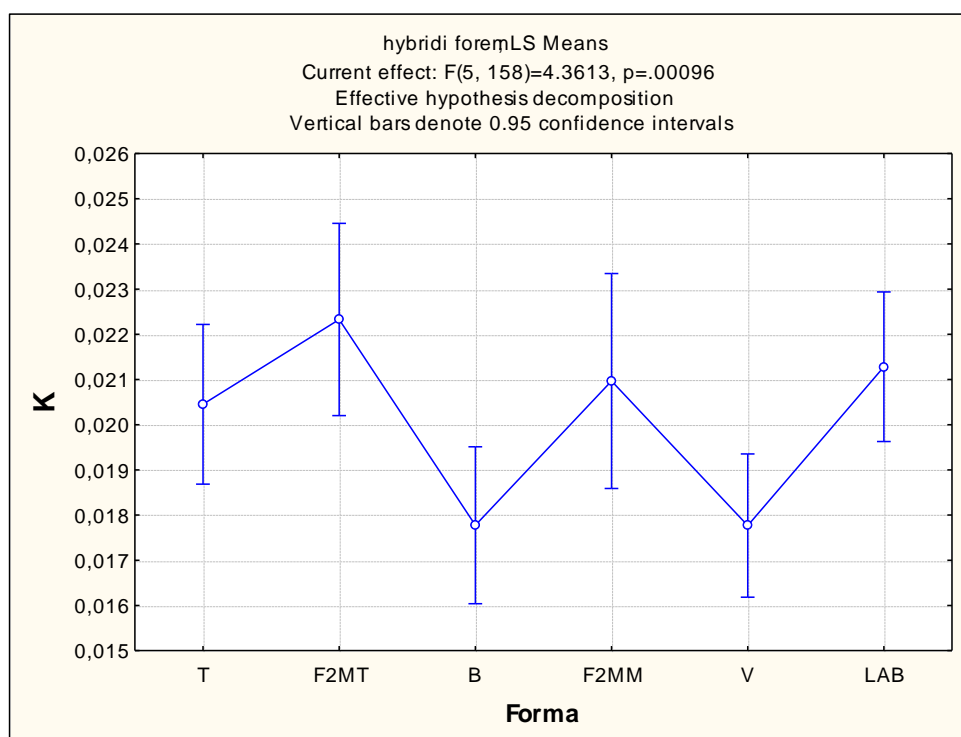
Pro tuto analýzu bylo použito neparametrické srovnání vícenásobných nezávislých skupin, Kruskal-Wallis ANOVA. Forma měla signifikantní vliv na všechny parametry růstové křivky viz Tab. 35, Obr. 49, Obr. 50 a Obr. 51.

Tab. 35 Výsledky Kruskal-Wallis ANOVA

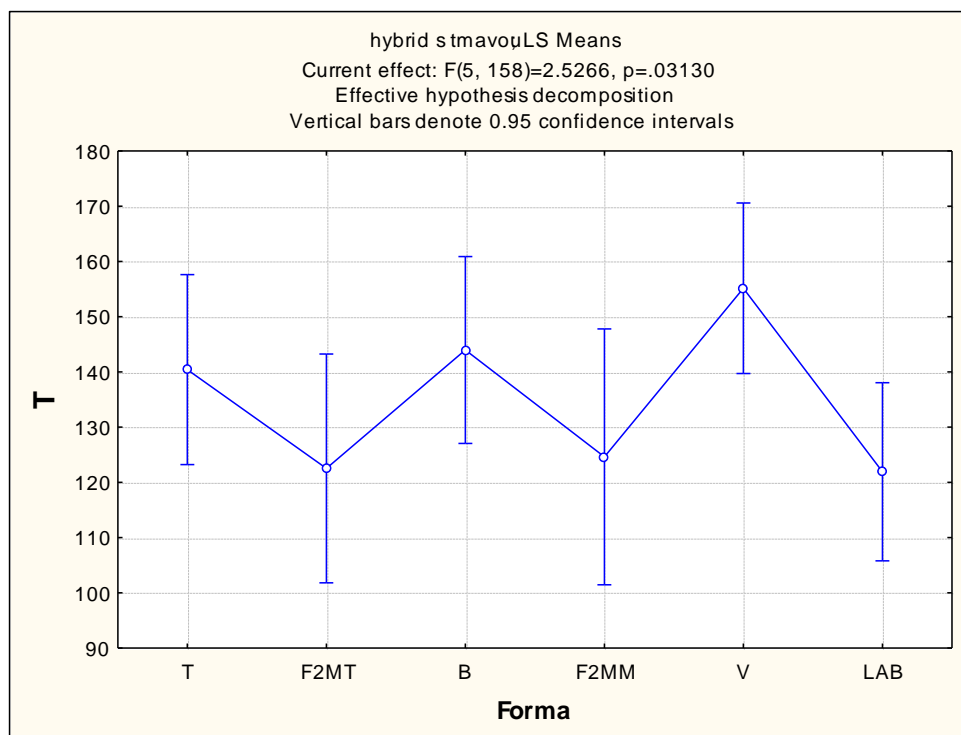
	Kruskal-Wallis ANOVA
a	$H_{(5, N=164)} = 68,62$ $p < 0,0001$
k	$H_{(6, N=166)} = 21,53$ $p = 0,0015$
T	$H_{(5, N=164)} = 19,07$ $p = 0,0019$



Obr. 49 Závislost asymptotické hmotnosti na formě (One-way ANOVA), $F(5, 158)=16,99, p<0,0001$; T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní



Obr. 50 Závislost růstové rychlosti na formě (One-way ANOVA), $F(5, 158)=4,36, p=0,001$; T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní



Obr. 51 Závislost inflexního bodu na formě (One-way ANOVA), $F_{(5, 158)}=2,53$, $p=0,0313$; T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní

Podle post hoc testů pro asymptotickou hmotnost se TMAVÁ forma signifikantně liší od BÍLÉ, VELKÉ formy, F2-hybridů mezi VELKOU a BÍLOU (F2MM) a od kontrolní LABORATORNÍ. VELKÁ a LAB forma se dále signifikantně liší od F2-hybridů s TMAVOU (F2MT) a od BÍLÉ formy (Tab. 36).

Tab. 36 Unequal N HSD, rozdíly v asymptotické hmotnosti mezi formami, signifikantní rozdíly – červeně, T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní

Forma	T	F2MT	B	F2MM	V	LAB
T		0,4392	0,0069	0,0315	<0,0001	<0,0001
F2MT	0,4392		0,9046	0,7503	0,0006	0,0004
B	0,0069	0,9046		0,9981	0,0022	0,0016
F2MM	0,0315	0,7503	0,9981		0,1844	0,1618
V	<0,0001	0,0006	0,0022	0,1844		1,0000
LAB	<0,0001	0,0004	0,0016	0,1618	1,0000	

Post hoc test tedy rozlišuje 3 homogenní skupiny, do kterých rozřazuje TMAVOU, BÍLOU a VELKOU. Kontrolní LAB je stejná jako VELKÁ. F2-hybridi mají intermediární charakter (Tab. 37, Obr. 49).

Tab. 37 Unequal N HSD pro asymptotickou hmotnost rozlišuje 3 homogenní skupiny; T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní; čeveně označené distinktní formy

Forma	a	1	2	3
T	27,56	****		
F2MT	32,29	****	****	
B	34,96		****	
F2MM	36,20		****	****
V	42,87			****
LAB	43,04			****

Podle post hoc testů porovnávající rychlost růstu (Tab. 38) se F2-hybridi s TMAVOU (F2MT) prokazatelně liší od BÍLÉ a VELKÉ formy. F2-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU (F2MM) se od ostatních signifikantně neliší, neboť mají v tomto parametru velkou varianci (viz Obr. 50). Kontrolní LABORATORNÍ se signifikantně liší od VELKÉ a od BÍLÉ formy se liší na hranici prokazatelnosti. Z grafu (Obr. 50) je patrné, že všichni F2-hybridi a LABORATORNÍ rostou o něco rychleji než čisté formy (V, B, T).

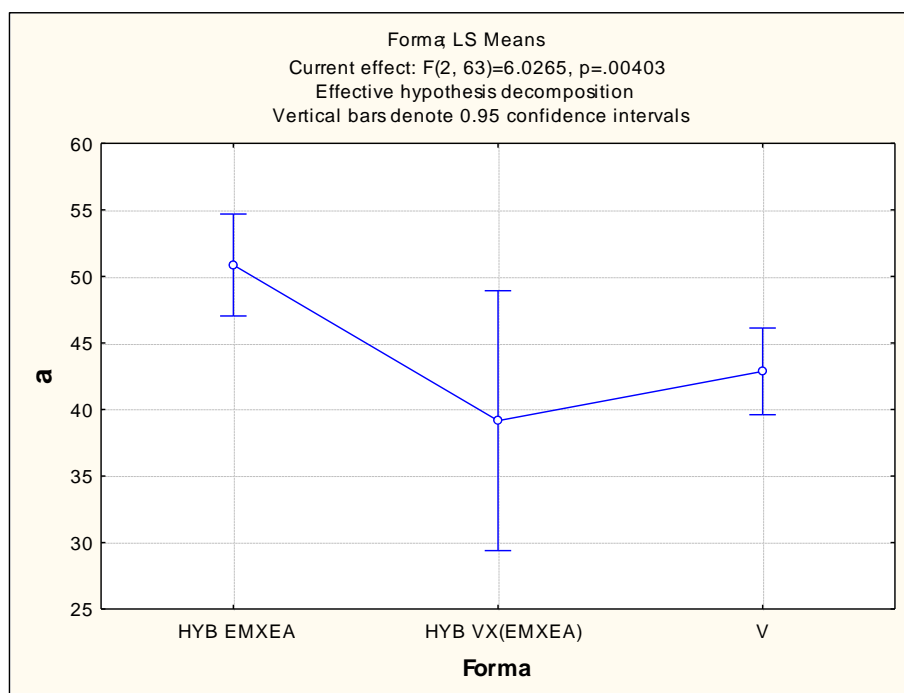
Tab. 38 Unequal N HSD, rozdíly rychlosti růstu mezi formami, signifikantní rozdíly – čeveně, těsně pod hranicí průkaznosti – oranžově, T-TMAVÁ, F2MT-hybridi s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridi mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní

Forma	T	F2MT	B	F2MM	V	LAB
T		0,8214	0,2789	0,9997	0,2763	0,9865
F2MT	0,8214		0,0334	0,9678	0,0330	0,9836
B	0,2789	0,0334		0,4180	1,0000	0,0543
F2MM	0,9997	0,9678	0,4180		0,4156	1,0000
V	0,2763	0,0330	1,0000	0,4156		0,0360
LAB	0,9865	0,9836	0,0543	1,0000	0,0360	

V inflexním bodu se podle post hoc testů jednotlivé formy od sebe prokazatelně neliší. Pouze LABORATORNÍ forma se liší od VELKÉ na hranici průkaznosti ($p = 0,0461$) viz Příloha 12. Na Obr. 51 je patrné, že všechny formy mají v tomto parametru velkou varianci.

8.3.2.2 Mezidruhová hybridizace mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*

Na asymptotickou hmotnost má forma průkazný vliv (One-way ANOVA, $F_{(2, 63)}=6,03$, $p=0,004$). Mezi jednotlivými formami ukázaly post hoc testy signifikantní rozdíl ($p = 0,0124$) pouze mezi VELKOU formou a hybridem mezi *E. macularius* a *E. angramainyu* (HYB EMxEA). Hybridi ze zpětného křížení s VELKOU formou (Vx(EMxEA)) jsou v odhadu asymptotické hmotnosti velmi variabilní (Obr. 52).



Obr. 52 Závislost asymptotické hmotnosti na formě (One-way ANOVA), $F_{(2, 63)}=6,03$, $p=0,004$; HYB EMxEA – F1 hybrid mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*, Vx(EMxEA) – zpětné křížení hybrida s VELKOU formou a V - VELKÁ forma

Pro další parametry růstové křivky (rychlost růstu a inflexní bod) neměla forma signifikantní vliv (Příloha 13, 14).

8.4 Diskuze

8.4.1 Formy druhu *E. macularius*

Největší hmotnosti podle růstového modelu by hypoteticky měli dosáhnout LAB a VELKÁ forma. BÍLÁ forma se jeví z pohledu maximální dosažitelné hmotnosti jako menší než VELKÁ forma, přičemž v ostatních parametrech růstové křivky (rychlost růstu, inflexní bod) se neliší.

Pokud by tento model platil, tak jediné vysvětlení rozdílné asymptotické hmotnosti při stejné rychlosti růstu (k) a stejné době, kdy ukončují růst (T), by byla skutečnost, že by se tyto formy lišily v hmotnosti po vylíhnutí. Tedy BÍLÁ forma by se líhla lehčí než VELKÁ. Toto tvrzení ovšem není pravdivé. Průměrná hmotnost mláďat BÍLÉ formy po vylíhnutí je 4,07 g a pro VELKOU formu je to 3,25 g.

Jelikož plazi obecně mají neukončený růst, 15 měsíců, po které byli jedinci pravidelně váženi, nestačí, aby dorostli do adultní velikosti. VELKÁ, TMAVÁ a LABORATORNÍ forma fituje logistický růstový model z 99%, zatímco BÍLÁ forma pouze v 98% případech. To by mohlo znamenat, BÍLÁ forma oproti ostatním ještě neukončila růst, a proto odhad její asymptotické hmotnosti nemusí být správný. Tuto hypotézu by potvrzovaly i mé výsledky z kapitoly Morfometrické rozlišení druhů a forem, kde se adultní jedinci BÍLÉ a VELKÉ formy v hmotnosti nelišila (BÍLÁ – 49,69g, VELKÁ – 54,33g).

Hmotnost je dobrý prediktor velikosti, ale k postižení celkové velikosti je zapotřebí počítat i s délkovými rozměry. Některé formy totiž mohou v ontogenezi investovat spíše do ukládání zásob a jiné do délkového růstu. Z tohoto pohledu je třeba doplnit růstové parametry i z délkových rozměrů. Tuto podrobnější analýzu budu vyhodnocovat později z materiálu (fotografií), který jsem již shromáždila během sledování hmotnostní růstové křivky.

TMAVÁ forma má menší odhad asymptotické hmotnosti než ostatní formy při zhruba stejných parametrech růstu. Malou hmotnost potvrzují i reálné hodnoty hmotnosti pro adulty této formy (29,37g). Vysvětlením, proč při stejných parametrech růstu dorůstá menší velikosti, je fakt, že tato forma se líhne již výrazně menší než ostatní (průměrná hmotnost po vylíhnutí je 2,35 g).

Zajímavá je dynamika růstu kontroly LABORATORNÍ formy, která roste rychleji a možná také svůj růst dříve ukončuje než ostatní formy. Taková dynamika růstu by mohla poukazovat na dlouhodobou umělou selekci v chovech, kdy je, stejně jako pro domácí zvířata, preferován rychlý růst, brzké dospívání a množení (Herre & Röhrs 1990).

8.4.2 Srovnání hybridů s rodičovskými liniemi v růstových parametrech

8.4.2.1 Vnitrodruhová hybridizace forem druhu *E. macularius*

Hybridi forem druhé generace (F2) vykazují v hodnotách asymptotické hmotnosti intermediální znaky rodičovských linií nebo se jimi blíží k jedné z nich. Tento intermediální charakter je typický pro hybridy i u jiných skupin zvířat (např. Darwinovy pěnkavy podle Grant & Grant 1996).

V rychlosti růstu a v inflexním bodu, tj. bodu, který reflekuje dobu ukončení růstu, se formy významně neliší. Nicméně F2-hybridy a kontrolní LABORATORNÍ formy mají tendenci rychleji růst a ukončovat růst dříve než čisté formy druhu *E. macularius*.

Jedním z vysvětlení tohoto trendu je, že F2-hybridy forem, jejichž rodiče byli první generací odchovanou v laboratorních podmínkách, již „zdomácněli“ a vykazují podobné parametry růstu jako LABORATORNÍ forma, která, jak už bylo zmíněno výše, byla po několika generacích selektována, podobně jako domestikovaná zvířata, k rychlému růstu a reprodukci.

Na druhou stranu by to také mohlo naznačovat, že F2-hybridy forem se liší ve strategii růstu oproti rodičovským liniím díky nové kombinaci alel některých genů, které by mohly pozitivně ovlivňovat tyto růstové parametry. A LABORATORNÍ forma s podobnou růstovou strategií by mohla být hypoteticky mnohačetným křížencem mezi různými formami druhu *E. macularius*.

8.4.2.2 Mezidruhová hybridizace mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*

Srovnání hybridů s *E. angramainyu* (F1-EMxEA a backcross Vx(EMxEA)) mohlo být provedeno pouze s jednou z rodičovských linií, druhem *E. macularius* (VELKÁ forma), protože rozmnožit *E. angramainyu* se v našem chovu podařilo až letošní sezónu 2008. Nicméně z morfometrické analýzy viz kapitola Morfometrie rozlišení druhů a forem, vyplývá, že *E. angramainyu* dorůstá větší velikosti (96,8g) než *E. macularius* (54,3g).

Odhadovaná asymptotická hmotnost F1-hybridů HYB EMxEA je prokazatelně větší než má mateřská forma *E. macularius*. Hybridy ze zpětného křížení s VELKOU formou Vx(EMxEA) se v asymptotické hmotnosti podobá spíše VELKÉ formě, tady

mateřskému druhu *E. macularius*. V ostatních růstových parametrech se hybridy neliší od druhu *E. macularius*. To znamená, že během mezidruhové hybridizace nedošlo k žádnému znevýhodnění hybridů, co se týče dynamiky růstu, ve srovnání alespoň s jedním rodičovským druhem. Naopak díky hybridizaci vznikají větší jedinci, což může být v přírodě výhodou, protože velikost a rychlost růstu je důležitým faktorem úspěšnosti některých obratlovců s ohledem na možnost využít, co nejširší potravní niku. Velikost těla anebo některých částí (např. tlamy) je často korelována s velikostí potravy, kterou mohou pozřít (Vitt 2000).

Při porovnání průměru odhadované asymptotické hmotnosti (42,87g) a skutečné hmotnosti adultních jedinců (54,3g), z předchozí morfometrické analýzy pro VELKOU formu, vyplývá, že sledovaní jedinci ještě nepřestali růst a model logistické křivky po 15 měsících prozatím nepredikuje skutečnou velikost.

9 Obecná diskuze

Obecně u obojživelníků a plazů existuje možnost úspěšného křížení i velmi vzdálených linií (Wilson et al. 1974a, Karl et al. 1995). Dobrým příkladem takového křížení je jsou mořské želvy čeledi Cheloniidae s teplotně určeným pohlavím (TSD). Absence pohlavních chromozomů by mohla být předpokladem pro úspěšnou hybridizaci, protože většina známých negativních jevů byla popsána u organismů s geneticky určeným pohlavím (True et al. 1996, Lijtmaer et al. 2003, Price & Bouvier 2002). Většina prací o hybridizaci na plazech pojednává také o druzích s GSD, a navíc často s partenogenezí (Arrayago et al. 1996, Taylor et al. 2001). Je možné, že druhy s TSD bez problematických pohlavních chromozomů by mohly mít výhodu ze snadné hybridizace a také kombinace nově získaných vlastností, by jim mohla umožnit rychle se přizpůsobit k novým podmínkám například v rychle se měnícím prostředí (Seehausen 2004)

Většinou se zkoumají různé aspekty bránící hybridizaci (zábrany v prekopulačních mechanismech u rodu *Anolis* Losos 2004, nebo poztzygotické RIM u rodu *Lacerta* Arrayago et al. 1996), anebo mají články často charakter zpráv popisujících morfologii, či pouhou existenci hybrida: např. u leguánů Lückert & Taler 2002, u kraitů Hennigen 2005, u želv Fritz & Mendau 2002, u ještěrek rodu *Lacerta* Arakelyan 2002, nebo u rodu *Phrynosoma* Baur 1984). Celkový vliv hybridizace na fitness hybridů, v porovnání s rodičovskými druhy, však byl důkladněji studován hlavně u afrických cichlid (Van der Sluijs 2007). Přitom studie fitness hybridů mezi sesterskými druhy je zásadní pro pochopení podstaty druhových hranic (Naisbit et al. 2001), i pro pochopení potenciálního kladného vlivu hybridizace v evoluci. Přesto práce, které by se komplexně zabývali všemi life-history parametry majícími přímý vliv na fitness hybridů, v zásadě chybí. Tato studie vlivu life-history parametrů na fitness hybridů u plazů je asi první, která se o podobný komplexní pohled pokouší.

Křížení na mezidruhové úrovni u druhů *E. macularius* a *E. angramayniu*, jejichž separaci lze odhadnout na 5 - 16,5 mil let (Zamudio 1997, Macey et al. 2000, Starostová 2004, Vences 2004) bylo v této studii celkem úspěšné. Pokud se F1 hybridů už vylíhnou, jsou viabilní a mají tendenci být větší než menší druh *E. macularius*, což může být za jistých okolností výhoda, např. v kompetici o potravu nebo sexuálního partnera.

Výsledky tedy potvrzují, že pokud jsou vyvinuty postzygotické bariéry, tak se rozhodně netýkají životaschopnosti a fitness hybridů.

Určitá nevýhoda bránící vzniku mezidruhových hybridů u gekončků je snížená líhnivost F1 hybridů, podobně jako mají například hybridi mezi druhy *Lacerta schreiberi* a *L. agilis* (Rykena 1996). Jiné studie naopak ukazují, že i při snížené líhnivosti díky své přizpůsobivosti mohou hybridi obývat i mnohem větší areál než rodičovské druhy (Kearney a Shine 2005). Někteří nově vzniklí hybridi mohou být v daném prostředí totiž zvýhodněni oproti rodičovským druhům a mohou je i vytlačit z původního stanoviště díky lepší adaptaci na nové nebo nepříznivější ekologické podmínky (Seehausen 2004, Burke & Arnold 2001).

Větší překážkou pro úspěšné přežívání mezidruhových hybridů u gekončků je naznačená neschopnost vyprodukovat F2 hybridy. Ovšem zpětná křížení, alespoň s jedním rodičovským druhem by teoreticky stačila k udržení hybridů v populaci. Teoreticky by takový model mohl v přírodě fungovat, jen pokud přináší hybridům podstatnou výhodu oproti rodičovským druhům (Kearney et al., 2005). Taková výhoda hybridů oproti rodičovským druhům se projevuje často v suboptimálních podmínkách (Wiley et al. 2007). Prokázat výhodu hybridů oproti alespoň jednomu rodičovskému druhu by se dalo v budoucnu otestovat pomocí performančních testů.

Zatím nelze s definitivní platností odpovědět na otázku, zda absence pohlavních chromosomů umožňuje bezproblémový tok genů mezi vzdálenými druhy *E. macularius* a *E. angramainyu*. K definitivnímu závěru bude potřeba vyhodnotit fertilitu F2 hybridů a hybridů ze zpětného křížení. V rámci mé diplomové práce tyto údaje nebylo možné zjistit vzhledem ke generační době tohoto modelového organismu trvající zhruba dva roky.

10 Závěr

- Jednotlivé formy se morfologicky liší především velikostí. Relativní délka zadních končetin je nejvýznamnější tvarovou veličinou.
- Všechny formy jsou schopné se křížit, i když výsledky z mezidruhové hybridizace mezi druhy *E. macularius* a *E. angramainyu* naznačují slabou preferenci konspecifického partnera.
- Líhnivost vajíček a životaschopnost a růst mláďat nenaznačují sníženou fitness F1 a F2 hybridů mezi formami druhu *E. macularius*, což naznačuje absenci dostatečně silných postzygotických RIM.
- Ačkoliv hybridizace na mezidruhové úrovni, mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*, má za výsledek sníženou líhnivost F1 hybridů a dokonce absenci F2 hybridů, tok genů mezi druhy může existovat díky úspěšnému zpětnému křížení s rodičovským druhem
- .Neprokázalo se, že by hybridizace měla pouze negativní vliv na fitness hybridů. V mnoha parametrech (hmotnost vajec či mláďat, růst) nejsou horší než rodičovské druhy. Naopak mezidruhovní hybridy dorůstají větší velikosti než jeden z rodičovských druhů (*E. macularius*), tudíž by mohli mít výhodu při kompetici o potravu, samice či v agresivních střetech.

11 Literatura

Adams KL, Wendel JF, 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 8:135-141.

Alatalo RV, Erisson D, Gustafsson L, Lundberg A, 1990. Hybridization between pied and collared flycatchers - sexual selection and speciation theory. *Journal Evolution Biology* 3:375-389.

Arakelyan M, 2002. The study of age, growth, and longevity in the triploid hybrids of rock lizards of the genus *Darevskia* in Armenia. *Russian Journal of Herpetology* 9:63-68.

Arrayago MJ, Bea A, Heulin B, 1996. Hybridization experiment between oviparous and viviparous strains of *Lacerta vivipara*: A new insight into the evolution of viviparity in reptiles. *Herpetologica* 52:333-342.

Balad'ová M, 2006. Sexuálny dimorfizmus a alometrie gekonov rodu *Teratoscincus* (Squamata: Gekkonidae). Katedra zoologie PřFUK Praha.

Baur B, 1984. Krötenechsen-Bastarde (*Phrynosoma*) (Sauria: Iguanidae). *Salamandra* 20:70-87.

Becak ML, Kobashi LS, 2004. Evolution by polyploidy and gene regulation in Anura. *Genetics and Molecular Research* 3:195-212.

Bragg WK, Fawcett JD, Bragg TB, Viets BE, 2000. Nest-site selection in two eublepharid gecko species with temperature-dependent sex determination and one with genotypic sex determination. *Biological Journal of the Linnean Society* 69:319-332.

Brandstaetter F, 1992. Observations on the territory-marking behaviour of the gecko *Eublepharis macularius*. *Hamadryad* 17:17-20.

Bull JJ, 1987. Temperature-dependent sex determination in reptiles: validity of sex diagnosis in hatchling lizards. *Canadian Journal of Zoology* 65:1421-1424.

Burke JM, Arnold ML, 2001. Genetics and the fitness of hybrids. *Annual Review of Genetics* 35:31-52.

Cole CJ, Dessauer HC, 1993. Unisexual and bisexual whiptail lizards of the *Cnemidophorus lemniscatus* complex (Squamata: Teiidae) of the Guiana Region, South America, with descriptions of new species. *The American Museum of Natural History* 3081:30.

Cole CJ, Dessauer HC, Townsend CR, 1990. Unisexual lizards of the genus *Gymnophthalmus* (Reptilia: Teiidae) in the Neotropics: Genetics, origin, and systematics. *The American Museum of Natural History* 2994:29pp.

- Cole CJ, Dessauer HC, Townsend CR, Arnold MG, 1995. *Kentropyx borckiana* (Squamata: Teiidae): A unisexual lizard of hybrid origin in the Guiana Region, South America. The American Museum of Natural History 3145:23pp.
- Coyne JA, Orr HA, 1998. The evolutionary genetics of speciation. The Philosophical Transactions of the Royal Society London B 353:287-305.
- Dobzhansky T, 1936. Studies on hybrid sterility. II. localization of sterility factors in *Drosophila pseudoobscura* hybrids. Genetics 21:113-135.
- Dowling TE, Secor CL, 1997. The role of hybridization and introgression in the diversification of animals. Annual Review of Ecology and Systematics 28:593-619.
- Fitzpatrick BM, 2004. Rates of evolution of hybrid inviability in birds and mammals. Evolution 58:1865-1870.
- Flegr J, 2005. Evoluční biologie. Praha: Academia.
- Flores D, Tousignant A, Crews D, 1994. Incubation temperature affects the behavior of adult leopard geckos (*Eublepharis macularius*). Physiology & Behavior 55:1067-1072.
- Fricke C, Arnqvist G, 2004. Conspecific sperm precedence in flour beetles. Animal Behaviour 67:729-732.
- Fritz U, Mendau D, 2002. Ein Gattung zweier südostasiatischer Schildkröten: *Cuora amboinensis kamaroma* RUMMLER & FRITY, 1991 x *Mauremys annamensis* (SIEBENROCK, 1903). Salamandra 38:129-134.
- Fu J, 1999. Phylogeny of lacertid lizards (Squamata: Lacertidae) and the evolution of unisexuality. Ph. D. dissertation. University of Toronto. National Library of Canada
- Garland T, Jr., Losos JB, 1994. Ecological morphology of locomotor performance in squamate reptiles. In: Ecological Morphology: Integrative Organismal Biology (Wainwright PC, Reilly S, eds). Chicago: University of Chicago Press; 240-302.
- Gerhardt HC, 2001. Acoustic communication in two groups of closely related treefrogs. In: Advances in Behavioral Biology (Slater PJB, Rosenblatt JS, Snowdon CT, Roper TJ, eds). New York: Academic Press; 99-167.
- Göçmen B, Tosunoğlu M, Ayaz D, 2002. Leopard Keleri, *Eublepharis angramainyu* (Reptilia: Sauria: Eublepharidae) nun Anadolu'dan İlk Kaydı. Herpetological Journal 12:1-4.
- Grant BR, Grant PR, 1996. High survival of Darwin's finch hybrids: effects of break morphology and diets. Ecology 77:500-509.
- Grant PR, Grant BR, Petren KP, 2005. Hybridization in the recent past. The American Naturalist 166:56-67.

- Grismer LL, 1988. Phylogeny, taxonomy, classification, and biogeography of eublepharid geckos. In: Phylogenetic Relationships of the Lizard Families (Estes R, Pregill G, eds). Stanford: Stanford University Press; 369-469.
- Grismer LL, 1991. Cladistic relationships of the lizard *Eublepharis turcmenicus* (Squamata: Eublepharidae). Journal of Herpetology 25:251-253.
- Gutzke WHN, Crews D, 1988. Embryonic temperature determines adult sexuality in a reptile. Nature 332:832-334.
- Haldane JBS, 1922. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals. Journal of Genetics 12:101-109.
- Han D, Zhou K, Bauer AM, 2004. Phylogenetic relationships among gekkotan lizards inferred from C-mos nuclear DNA sequences and a new classification of the Gekkota. Biological Journal of the Linnean Society 83:353-368.
- Hennigan, T 2005. An initial investigation into the Baraminology of snakes: order - Squamata, suborder Serpentes. Creation Research Society Quarterly 42:153-160.
- Hedges BS, Bogart JP, Maxson LR, 1992. Ancestry of unisexual salamanders. Nature 356:708-710.
- Herre W, Röhrs M, 1990. Haustiere – zoologisch gesehen. Gustav Fischer Verlag Stuttgart
- Herrel A, Meyers JJ, Vanhooydonck B, 2001. Correlations between habitat use and body shape in a phrynosomatid lizard (*Urosaurus ornatus*): a population-level analysis. Biological Journal of the Linnean Society 74:305-314.
- Chapman MA, Burke JM, 2007. Genetic divergence and hybrid speciation. Evolution 61:1773-1780.
- Chenuil A, Galtier N, Berrebi P, 1999. A test of the hypothesis of an autopolyploid vs. a allopolyploid origin for a tetraploid lineage: application to the genus *Barbus* (Cyprinidae). Heredity 82: 373–380.
- Karl SA, Bowen BW, Avise JC, 1995. Hybridization among the ancient marineres: Characterization of marine turtle hybrids with molecular genetic assays. Journal of Heredity 86:262-268.
- Kearney M, Moussalli A, 2003a. Geographic parthenogenesis in the Australian arid zone: II. Climatic analyses of orthopteroid insects of the genera *Warramaba* and *Sipyloidea*. Evolutionary Ecology Research 5:977-997.
- Kearney M, Moussalli A, Strasburg J, Lindenmayer D, Moritz C, 2003b. Geographic parthenogenesis in the Australian arid zone: I. A climatic analysis of the *Heteronotia binoei* complex (Gekkonidae). Evolutionary Ecology Research 5:953-976.

- Kearney M, Shine R, 2004. Developmental success, stability, and plasticity in closely related parthenogenetic and sexual lizards (*Heteronotia*, Gekkonidae). *Evolution* 58:1560-1572.
- Kearney M, Shine R, 2005. Lower fecundity in parthenogenetic geckos than sexual relatives in the Australian arid zone. *Journal Evolution Biology* 18:609-618.
- Kearney M, Wahl R, Autumn K, 2005. Increased capacity for sustained locomotion at low temperature in parthenogenetic geckos of hybrid origin. *Physiological and Biochemical Zoology* 78:316–324.
- Kratochvíl L, Frynta D, 2002. Body size, male combat and the evolution of sexual dimorphism in eublepharid geckos (Squamata: Eublepharidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 76:303-314.
- Kratochvíl L, Frynta D, 2006. Body-size effect on egg size in eublepharid geckos (Squamata:Eublepharidae), lizards with invariant clutch size: negative allometry for egg size in ectotherms is not universal. *Biological Journal of the Linnean Society* 88:527-532
- LaDage L, Ferkin MH, 2006. Male leopard geckos (*Eublepharis macularius*) can discriminate between two familiar females. *Behaviour* 143:1033-1049.
- Lijtmaer DA, Mahler B, Tubaro PL, 2003. Hybridization and postzygotic isolation patterns in pigeons and doves. *Evolution* 57:1411-1418.
- Lücker, H, Feiler, A 2002. Beobachtung einer Paarung zwischen Meerechsen-ännchen (*Amblyrhynchus cristatus*) und Landleguan-Weibchen (*Conolophus subcristatus*) auf Plaza-Sur/Galapagos-Inseln sowie Beobachtungen an einem adulten Gattungshybriden (*Amblyrhynchus x Conolophus*). *Elaphe* 10: 49-54.
- Losos JB, 2004. Adaptation and speciation in Greater Antillean anoles. In: *Adaptive Speciation* (Dieckmann U, Doebeli M, Metz JAJ, Tautz D, eds). Cambridge, U.K: Cambridge University Press; 335-343.
- Macey JR, Schulte JA, Kami HG, Ananjeva NB, Larson A, Papenfuss TJ, 2000. Testing hypotheses of vicariance in the agamid lizard *Laudakia caucasia* from Mountain Ranges on the northern Iranian Plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 14:479-483.
- Manning GJ, Cole CJ, Dessauer HC, Walker JM, 2005. Hybridization Between Parthenogenetic Lizards (*Aspidoscelis neomexicana*) and Gonochoristic Lizards (*Aspidoscelis sexlineata viridis*) in New Mexico: Ecological, Morphological, Cytological, and Molecular Context. *The American Museum of Natural History* 3492:56.
- Mason RT, Gutzke WHN, 1990. Sex recognition in the leopard gecko, *Eublepharis macularius* (Sauria: Gekkonidae) Possible mediation by skin-derived semiochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 16:27-36.

- McDonald DB, Clay RP, Brumfield R, Braun MJ, 2001. Sexual selection on plumage and behavior in an avian hybrid zone: Experimental tests of male-male interactions. *Evolution* 55:1443-1451.
- Moritz C, 1991. The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoei* (Gekkonidae): Evidence for recent and localized origins of widespread clones. *Genetics* 129:211-219.
- Naisbit RE, Jiggins CD, Mallet J, 2001. Disruptive sexual selection against hybrids contributes to speciation between *Heliconius cydno* and *Heliconius melpomene*. *Proceedings of the Royal Society London B* 268:1849-1854.
- Parham JF, Simison WB, Kozak KH, Feldman CR, Shi H, 2001. New Chinese turtles: endangered or invalid? A reassessment of two species using mitochondrial DNA, allozyme electrophoresis and known-locality specimens. *Animal Conservation* 4:357-367.
- Parker ED, Jr., Selander RK, 1976. The organization of genetic diversity in the partenogenetic lizard *Cnemidophorus tesselatus*. *Genetics* 84:791-805.
- Polet G, Murphy DJ, Phan VL, Tran VM, 2002. Crocodile conservation at work in Vietnam, re-establishing *Crocodylus siamensis* in Cat Tien National Park. *Proceedings of the 16th Working Meeting of the IUCN-SSC Crocodile Specialist Group*. Gainesville, Florida, 7-10 October 2002.:86-95.
- Prager EM, Wilson AC, 1975. Slow evolutionary loss of the potential for interspecific hybridization in birds: A manifestation of slow regulatory evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72:200-204.
- Price TD, Bouvier MM, 2002. The evolution of F1 postzygotic incompatibilities in bird. *Evolution* 56:2083-2089.
- Putz O, Crews D, 2005. Embryonic origin of mate choice in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Developmental Psychobiology* 48:29-38.
- Rhen T, Ross J, Crews D, 1999. Effects of testosterone on sexual behavior and morphology in adult female leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *Hormones and Behaviour* 36:119-128.
- Rice WR, Chippindale AK, 2002. The evolution of hybrid infertility: perpetual coevolution between gender-specific and sexually antagonistic genes. *Genetica* 116:179-188.
- Rykena S, 1996. Experimental interspecific hybridisation in the genus *Lacerta*. *Israel Journal of Zoology* 42:171-184.
- Saether SA, Saetre G-P, Borge T, Wiley C, Svedin N, Andersson G, Veen T, Haavie J, Servedio MR, Bureš S, Král M, Hjernquist MB, Gustafsson L, Träff J, Qvarnström A, 2007. Sex chromosome-linked species recognition and evolution of reproductive isolation in flycatchers. *Science* 318:95-97.

Sakata J, Crews D, 2003. Embryonic temperature shapes behavioural change following social experience in male leopard geckos, *Eublepharis macularius*. *Animal Behaviour* 66:839-846.

Seehausen O, 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends in Ecology and Evolution* 19:198-207.

Seufer H, Kaverkin Y, Kirschner A, 2005. The eyelash geckos: Care, breeding and natural history. Natural History. Kirschner & Seuffer Verlag, 238pp.

Schmidtler JF, Eiselt J, Darevsky IS, 1994. Untersuchungen an Felseidechsen (*Lacerta saxicola*-Gruppe) in der östlichen Türkei: 3. Zwei neue parthenogenetische Arten. *Salamandra* 30:55-70.

Slábová M, Frynta D, 2007. Morphometric variation in nearly unstudied populations of the most studied mammal: The non-commensal house mouse (*Mus musculus domesticus*) in the Near East and Northern Africa. *Zoologischer Anzeiger* 246: 91-101.

Starostová Z, 2004. Fylogeneze a evoluční velikost těla, buněk a genomů u ještěřů čeledi Eublepharidae. Diplomová práce. Katedra zoologie PřFUK Praha.

Steele LJ, Cooper WE, Jr., 1997. Investigations of pheromonal discrimination between conspecific individuals by male and female leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Herpetologica* 53:475-484.

Strasburg JL, Kerney M, 2005. Phylogeography of sexual *Heteronotia binoei* (Gekkonidae) in the Australian arid zone: climatic cycling and repetitive hybridization. *Molecular Ecology* 14:2755-2772.

Taylor DJ, Herbert PDN, 1993. Habitat-dependent hybrid parentage and differential introgression between neighboringly sympatric *Daphnia* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90:7079-7083.

Taylor HL, Cole CJ, Hardy LM, Dessauer HC, Townsend CR, Walker JM, Cordes JE, 2001. Natural hybridization between the teiid lizards *Cnemidophorus tesselatus* (Parthenogenetic) and *C. tigris marmoratus* (Bisexual): Assessment of evolutionary alternatives. *The American Museum of Natural History* 3345:65pp.

Tousignant A, Viets BE, Flores D, Crews D, 1995. Ontogenetic and social factors affect the endocrinology and timing of reproduction in the female leopard gecko (*Eublepharis macularius*). *Hormones and Behaviour* 29:141-153.

True JR, Weir BS, Laurie CC, 1996. A genome-wide survey of hybrid incompatibility factors by the introgression of marked segments of *Drosophila mauritiana* chromosomes into *Drosophila simulans*. *Genetics* 142:819-837.

Uetz P & Hallerman J, 2008. The EMBL Reptile Database, Zoological Museum Hamburg, Germany. <http://www.reptile-database.org/>

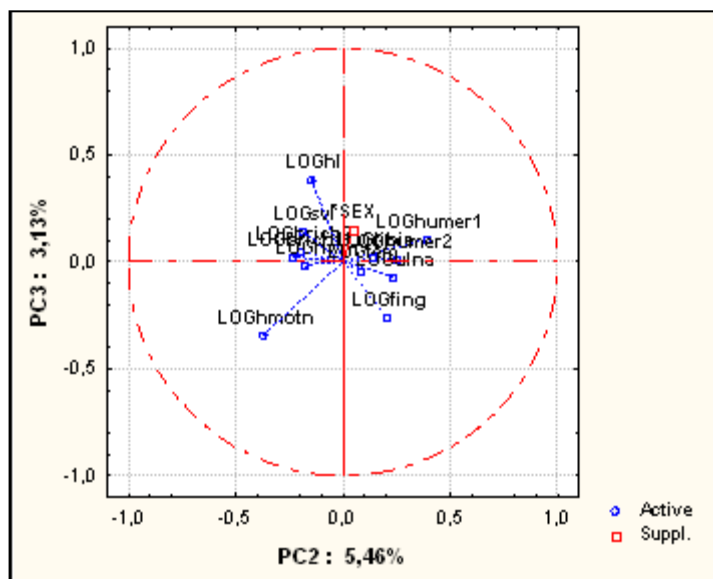
- Van der Sluijs I, van Dooren TJM, Seehausen O, van Alphen JJM, 2008. A test of fitness consequences of hybridization in sibling species of Lake Victoria cichlid fish. *Journal Evolution Biology* 21:480-491.
- Vences M, 2004. Origin of Madagascar's extant fauna: a perspective from amphibians, reptiles and other non-flying vertebrates. *Italian Journal of Zoology* 2:217-228.
- Vitt LJ, 2000. Ecological consequences of body size in neonatal and small-bodied lizards in the Neotropics. *Herpetological Monographs* 14:388-400.
- Vitt LJ, Caldwell JP, Zani PA, Titus TA, 1997. The role of habitat shift in the evolution of lizard morphology: evidence from tropical *Tropidurus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:3828-3832.
- Wiens JJ, Servedio MR, 2000. Species delimitation in systematics: inferring diagnostic differences between species. *Proceedings of the Royal Society B* 267:631-636.
- Wiley C, Fogelberg N, Sather SA, Veen T, Svedin N, Kehlenbeck JV, Qvarnström A, 2007. Direct benefits and costs for hybridizing *Ficedula* flycatchers. *Journal Evolutionary Biology* 20:854-864.
- Wilson AC, Maxson LR, Sarich VM, 1974a. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71:2843-2847.
- Wilson AC, Sarich VM, Maxson LR, 1974b. The importance of gene rearrangement in evolution: Evidence from studies on rates of chromosomal, protein, and anatomical evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71:3028-3030.
- Wink M, Guicking D, Fritz U, 2000. Molecular evidence for hybrid origin of *Mauremys iversoni* PRITCHARD et McCORD, 1991, and *Mauremys pritchardi* McCORD, 1997 (Reptilia: Testudines: Bataguridae). *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 51:41-49.
- Zamudio KR, 1997. Phylogeography of the bushmaster (*Lachesis muta*: Viperidae): implications for neotropical biogeography, systematics, and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society* 62:421-442.

12 Přílohy

Morfometrické rozlišení druhů a forem

PCA

Příloha 1 PCA. Projekce proměnných na druhé a třetí osy hlavních komponent. S PC2 negativně korelují rozměry trupu, hlavy a hmotnost. Pozitivně korelují délkové rozměry na končetinách. PC3 vysvětluje už pouze 3,13% variability.



ANOVA

Příloha 2 Factor Scores PC1 a PC2

	Factor 1	Factor 2	FORM		Factor 1	Factor 2	FORM
1	-0,15303	0,91257	B	61	1,54981	0,26596	T
2	0,43471	1,44198	B	62	2,11131	0,13659	T
3	-0,23800	0,23785	B	63	1,73450	0,92644	T
4	-0,37559	1,41868	B	64	1,49016	-0,60509	T
5	-0,46249	0,79569	B	65	0,53511	1,44258	T
6	-0,50008	0,56981	B	66	1,79592	-0,91117	T
7	-0,54810	1,80065	B	67	1,45585	-0,19974	T
8	-0,08039	-0,50132	B	68	1,92796	-1,12429	T
9	0,26802	-0,33078	B	69	1,50120	-0,32688	T
10	0,10171	0,29096	B	70	1,64703	-0,20611	T
11	-0,27955	-0,55996	B	71	1,47315	-1,09197	T
12	-0,57283	-0,19201	B	72	1,70489	-0,71075	T
13	-0,76258	0,68351	B	73	1,19396	-0,12346	T
14	-0,12455	0,62597	B	74	1,26099	-1,55677	T
15	-0,07848	1,07608	B	75	1,14086	-0,34496	T
16	0,10353	-0,36458	B	76	2,20139	0,15637	T
17	0,16213	0,38763	B	77	2,38332	1,46170	T
18	-0,10150	0,29164	B	78	1,98319	0,52245	T
19	-0,48215	0,69098	B	79	1,76658	-0,53858	T
20	-0,78050	0,38218	B	80	1,54289	0,48879	T
21	-0,51596	-0,07504	B	81	1,74176	-0,31550	T
22	-0,50684	-1,15088	B	82	1,82888	-0,93522	T
23	-0,58201	0,40805	B	83	0,71019	0,37159	V
24	-0,16532	-1,10554	B	84	0,22976	-0,31112	V
25	0,10531	-0,34523	B	85	-0,06706	-0,60225	V
26	-0,38925	-0,27469	B	86	-0,47613	-0,63877	V
27	-0,44040	-0,78059	B	87	0,33990	-0,69786	V
28	-0,50468	-0,15078	B	88	-0,96984	0,99117	V
29	-0,84433	-1,30014	B	89	-0,69360	-0,83457	V
30	-0,58020	1,33231	B	90	-0,40791	0,03491	V
31	0,06826	1,77339	B	91	-0,17151	-0,49530	V
32	-0,70701	0,59798	B	92	-0,70508	-0,33091	V
33	-0,67694	2,36236	B	93	-0,91580	-0,42034	V
34	-0,30086	1,31530	B	94	-0,30832	-0,79612	V
35	-0,40893	2,21714	B	95	-1,02451	0,85047	V
36	-0,13203	0,78873	B	96	-0,11881	-1,02984	V
37	0,35910	1,30477	B	97	-0,81154	-1,58872	V
38	0,39356	1,02803	B	98	-0,31011	-0,74765	V
39	0,08687	-1,22700	EA	99	-0,34826	-2,48420	V
40	-0,63583	0,37321	EA	100	-0,56068	-1,10242	V
41	-0,35350	1,05404	EA	101	0,04489	-1,15360	V
42	-0,87891	1,25009	EA	102	0,02876	-1,09132	V
43	-0,67824	0,35986	EA	103	-0,62993	-1,16185	V
44	-0,77024	0,07422	EA	104	-0,63317	-2,52936	V
45	-0,98138	0,47033	EA	105	0,11353	-0,98196	V
46	-1,03799	0,28143	EA	106	-0,61240	-1,83073	V
47	-1,21680	0,33686	EA	107	-0,71659	-1,43054	V
48	-1,12199	-0,96000	EA	108	0,73251	0,28568	V
49	-1,29868	-0,36484	EA	109	0,34993	0,59907	V
50	-1,71937	0,54303	EA	110	0,64263	-0,72828	V
51	-1,55069	0,00220	EA	111	0,44534	-0,56130	V
52	-1,49157	-1,17083	EA	112	0,24584	0,77346	V
53	-2,33163	-0,68419	EA	113	0,91641	-0,38633	V
54	-1,50334	-2,57040	EA	114	0,47071	0,11976	V
55	-2,46063	-1,30948	EA	115	0,30355	0,48512	V
56	-1,37485	0,68674	EA	116	0,57217	0,44366	V
57	-1,24892	1,96955	EA	117	0,67202	-0,47948	V
58	-1,18841	2,10372	EA	118	0,86265	0,53419	V
59	-1,08524	1,53566	EA	119	0,28546	0,02221	V
60	0,91008	1,13545	T	120	0,77379	1,00075	V

DFA

Příloha 3 Čtvercové Mahalanobisovy vzdálenosti mezi vektory středních hodnot jednotlivých forem. Nejvíce se od všech liší TMAVÁ forma – T.

	T	B	V	EA
T		28,210	18,057	53,945
B	28,210		6,311	12,607
V	18,057	6,311		22,563
EA	53,945	12,607	22,563	

Příloha 4 Souhrn proměnných vstupujících do DFA a jejich příspěvek k správné klasifikaci v DFA s Mosimannovou transformací dat. Wilks' Lambda: 0,1215; $F_{(33,312)} = 9,91$; $p < 0,0001$. Červeně – S; oranžově – na hranici prokazatelnosti.

	Wilks'	Partial	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler.
LOGhmotn	0,13	0,92	3,07	0,0309	0,00	1,00
LOGsvl	0,13	0,93	2,54	0,0603	0,10	0,90
LOGbrich1	0,13	0,92	2,92	0,0375	0,06	0,94
LOGfem	0,13	0,93	2,65	0,0527	0,12	0,88
LOGtibia	0,13	0,93	2,64	0,0535	0,07	0,93
LOGhumer1	0,13	0,92	3,06	0,0313	0,03	0,97
LOGhumer2	0,13	0,96	1,35	0,2613	0,08	0,92
LOGulna	0,13	0,94	2,42	0,0705	0,06	0,94
LOGfing	0,13	0,93	2,82	0,0425	0,04	0,96
LOGhw	0,13	0,95	1,91	0,1318	0,12	0,88
LOGhl	0,13	0,94	2,06	0,1100	0,06	0,94

Příloha 5 Čtvercové Mahalanobisovy vzdálenosti mezi vektory středních hodnot jednotlivých forem s Mosimannovou transformací dat. Nejvíce se od všech liší E. angramainyu a potom až TMAVÁ forma – T.

	T	B	V	EA
T		10,985	6,739	39,482
B	10,985		3,949	11,052
V	6,739	3,949		18,600
EA	39,482	11,052	18,600	

CVA

Příloha 6 Eigenvalues pro jednotlivé kanonické osy a při jejich postupném odstranění. CVA logaritmicky transformovaných dat. Červeně – S

Počet odstraněných os	Eigen - value	Canonical R	Wilksova lambda	Chi-Sqr.	Stupně volnosti	p-level
0	6,54	0,93	0,06	305,69	36	<0,0001
1	0,53	0,59	0,48	81,45	22	<0,0001
2	0,36	0,51	0,74	33,94	10	0,0002

Příloha 7 Sycení kanonických os pro logaritmicky transformovaná data

	Root 1	Root 2
LOGhmotn	0,487	-0,362
LOGsvl	0,473	-0,551
LOGbrich1	0,467	-0,557
LOGbrich2	0,486	-0,464
LOGfem	0,745	-0,093
LOGtibia	0,611	-0,143
LOGhumer1	0,494	-0,207
LOGhumer2	0,580	-0,182
LOGulna	0,552	-0,005
LOGfing	0,706	-0,237
LOGhw	0,549	-0,433
LOGhl	0,373	-0,472

Příloha 8 Průměry jednotlivých forem na kanonických osách. Podle první osy se nejvíce od sebe liší TMAVÁ forma *E. macularius* a druh *E. angramainyu*. Podle druhé osy pak TMAVÁ s VELKOU formou. Logaritmicky transformovaná data. Oranžově – průměry forem, které se mezi sebou nejvíce liší.

	Root 1	Root 2
T	-4,159	0,700
B	0,802	0,371
V	-0,469	-1,042
EA	3,952	0,447

Příloha 9 Eigenvalues pro jednotlivé kanonické osy a při jejich postupném odstranění. CVA dat po Mosimannově transformaci. Červeně – S; oranžově – na hranici prokazatelnosti.

Počet odstraněných os	Eigen - value	Canonical R	Wilksova lambda	Chi-Sqr.	Stupně volnosti	p-level
0	3,80	0,89	0,12	235,04	33	<0,0001
1	0,48	0,57	0,58	60,11	20	<0,0001
2	0,16	0,37	0,86	16,56	9	0,0560

Příloha 10 Sycení kanonických os pro data s Mosimannovou transformací.

	Root 1	Root 2
LOGhmotn	-0,466	-0,574
LOGsvl	0,741	-0,076
LOGbrich1	0,514	-0,315
LOGfem	0,105	0,805
LOGtibia	0,075	0,445
LOGhumer1	0,028	0,245
LOGhumer2	0,143	0,467
LOGulna	0,014	0,473
LOGfing	-0,162	0,131
LOGhw	0,332	0,085
LOGhl	0,370	0,061

Příloha 11 Průměry jednotlivých forem na kanonických osách. Podle první osy se nejvíce od sebe liší opět TMAVÁ forma *E. macularius* a druh *E. angramainyu*. Podle druhé osy pak vymezují i BÍLÁ a VELKÁ forma. Mosimannova transformace dat. Oranžově – průměry forem, které se mezi sebou nejvíce liší.

	Root 1	Root 2
T	2,711	0,429
B	-0,400	0,710
V	0,663	-0,915
EA	-3,444	-0,098

Hmotnostní růstové křivky

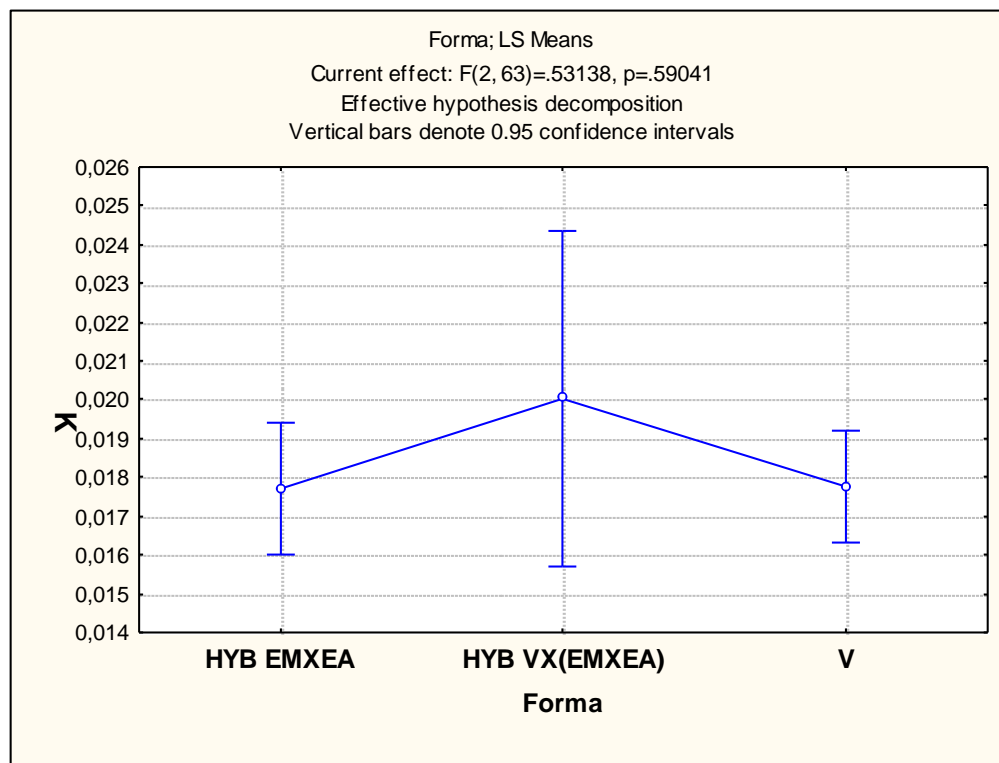
Vnitrodruhová hybridizace forem druhu *E. macularius*

Příloha 12 Unequal N HSD, rozdíly v inflexním bodu mezi formami, signifikantní rozdíly – červeně, T-TMAVÁ, F2MT-hybridizace s TMAVOU, B-BÍLÁ, F2MM-hybridizace mezi VELKOU a BÍLOU, V-VELKÁ, LAB-kontrolní laboratorní

Forma	T	F2MT	B	F2MM	V	LAB
T		0,8340	0,9997	0,9327	0,8391	0,6631
F2MT	0,8340		0,6991	1,0000	0,2379	1,0000
B	0,9997	0,6991		0,8530	0,9406	0,4525
F2MM	0,9327	1,0000	0,8530		0,4395	1,0000
V	0,8391	0,2379	0,9406	0,4395		0,0462
LAB	0,6631	1,0000	0,4525	1,0000	0,0462	

Mezidruhová hybridizace mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*

Příloha 13 Závislost růstové rychlosti na formě (One-way ANOVA), $F_{(2, 63)}=0,53138$, $p=0,59041$; HYB EMxEA – F1 hybrid mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*, Vx(EMxEA) – zpětné křížení hybridu s VELKOU formou a V - VELKÁ forma



Příloha 14 Závislost inflexního bodu na formě (One-way ANOVA), $F_{(2, 63)}=0,50175$, $p=0,60787$; HYB EMxEA – F1 hybrid mezi *E. macularius* a *E. angramainyu*, VX(EMxEA) – zpětné křížení hybridu s VELKOU formou a V - VELKÁ forma

